

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1934-1935

N° 23

RECHERCHES SUR LA FLORE ADVENTICE DU VACCIN ANTIVARIOLIQUE

(PENICILLIUM - SCOPULARIOPSIS - ACTINOMYCES)

(Travail effectué au Laboratoire de Cryptogamie de la Faculté de Pharmacie,
au Laboratoire de Parasitologie
de la Faculté de Médecine, à l'Institut Supérieur de Vaccine de l'Académie de Médecine)

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le Juin 1935

PAR

Germaine SALVANET-DUVAL

Interne des Hôpitaux de Paris
Licenciée ès sciences

JURY..... { MM. LUTZ, *Président*
 PICON, *Professeur*
 BACH, *Agrégé*

PARIS
LIBRAIRIE E. LE FRANÇOIS
91, BOULEVARD ST-GERMAIN, 91

—
1935

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1934-1935

N° 23

RECHERCHES SUR LA FLORE ADVENTICE DU VACCIN ANTIVARIOLIQUE

(PENICILLIUM - SCOPULARIOPSIS - ACTINOMYCES)

(Travail effectué au Laboratoire de Cryptogamie de la Faculté de Pharmacie,
au Laboratoire de Parasitologie
de la Faculté de Médecine, à l'Institut Supérieur de Vaccine de l'Académie de Médecine)

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le Juin 1935

PAR

Germaine SALVANET-DUVAL

Interne des Hôpitaux de Paris
Licenciée ès sciences

JURY..... { MM. LUTZ, Président
 PICON, Professeur
 BACH, Agrégé

PARIS

LIBRAIRIE E. LE FRANÇOIS
91, BOULEVARD ST-GERMAIN, 91

1935

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. GUÉRIN, *Doyen*, O. *, O I.
P. LEBEAU, *Assesseur*, O. *, O I.
P. DESPORT, *Secrétaire*, *, O I.

PROFESSEURS

MM. GUÉRIN, *, O I.	Botanique générale.
BÉHAL, Membre de l'Institut, G. O. *, O I.	Chimie organique.
PERROT, O. *, O I.	Histoire naturelle des médicaments.
COUTIERE, O. *, O I.	Zoologie.
LEBEAU, O. *, O I.	Pharmacie chimique.
BOUGAULT, *, O I.	Chimie analytique.
GORIS, *, O I.	Pharmacie galénique.
TASSILLY, O. *, O I.	Physique.
DAMIENS, *, O I.	Chimie minérale.
HÉRISSEY, O. *, O I.	Chimie biologique.
SOMMELET, *, O I.	Hydrologie et Hygiène.
LUTZ, *, O I.	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, *, O I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. *, O I.	Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. *, O I.

Professeurs honoraires :

MM. BÉHAL, G. O. *, O I., DELÉPINE, O. *, O I. Membres de l'Institut;
M. GUERBET, *, O I.

CHARGÉS DE COURS

MM. Marc HONNORAT, *, O I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LAUNOY, O. *, O I.	Pharmacodynamie.
DELABY, *, O I.	Minéralogie.
PICON, O I.	Chimie minérale.
BACH, O I.	Microbiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. DELABY, *, O A.
PICON, O I.
MASCRÉ, O I.
FLEURY, O I.

MM. BACH, O I.
BEDEL, O I.
RÉGNIER, O I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL, O I., *agrégé*, chargé des T. P. de 1^{re} année. Chimie générale.
FLEURY, O I. et RÉGNIER, O I. : *agrégés*,
chargés des travaux de Chimie analytique.
SOUÈGES, O I. Micrographie.
LEROUX, O I. Physique.
DEVAL, *, O I. Microbiologie.
DELABY, *, O I., PICON, O I. et MASCRÉ, O I. :
agrégés, chargés des travaux généraux de 4^e année.
Bibliothécaire en Chef : M. BERNARD, O I.



A MES PARENTS

A MON MARI

En témoignage de profonde affection.



A MES MAÎTRES DES FACULTÉS ET DES HÔPITAUX

Hommage très respectueux et profondément reconnaissant.

AVANT-PROPOS

Au début de ce travail, nous tenons à honorer la mémoire de M. le Dr L. Camus, Directeur de l'Institut Supérieur de Vaccine. Il nous confia l'étude d'un certain nombre de champignons trouvés dans le vaccin antivariolique, sur la recommandation de M. Deval, chef des travaux pratiques de microbiologie à la Faculté de Pharmacie, que nous remercions bien sincèrement.

Dans ces recherches, M. le Professeur agrégé H. Bénard guida nos premiers pas et ne nous ménagea point ses conseils éclairés ; qu'il veuille bien trouver ici l'expression de nos sentiments respectueux et nos très vifs remerciements.

Une grande partie de notre travail s'est effectuée dans le laboratoire de parasitologie de la Faculté de Médecine, où M. le Professeur Brumpt voulut bien nous accueillir. Nous avons trouvé dans son laboratoire une atmosphère de travail tout à fait favorable. Pour sa bienveillante hospitalité, nous lui adressons nos remerciements bien sincères et nous le prions d'agréer nos sentiments respectueusement reconnaissants. En M. le Docteur Langeron, son chef de laboratoire, nous avons eu l'heureuse fortune de rencontrer un maître compétent et dévoué qui suivit nos travaux avec une patiente sollicitude et nous dispensa sans compter les précieux conseils de sa grande expérience. Nous lui exprimons ici nos remerciements très sincères et l'assurance de notre toute particulière gratitude.

M. le Professeur Lutz a bien voulu accepter la présidence de cette thèse : nous lui en sommes profondément reconnaissante.

A M. le Professeur Picon, qui fut notre maître si dévoué pendant nos premières années d'Internat et qui voulut bien

faire partie du jury de notre thèse, nous adressons l'expression de notre vive gratitude.

A M. le Professeur agrégé Bach, qui accepta aussi de faire partie du jury de cette thèse, nous adressons nos respectueux remerciements.

Nous assurons également notre maître actuel, M. le Professeur Tiffeneau, pharmacien-chef de l'Hôtel-Dieu, de nos sentiments respectueusement dévoués.

M. Duché, docteur ès-sciences, voulut bien nous faire profiter de sa connaissance approfondie du groupe des *Actinomyces* albus : nous le remercions vivement de son aimable accueil et de ses conseils.

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS

Historique

Après avoir ravagé l'Orient pendant des siècles, la variole est introduite en Europe par les Croisés. Jusqu'au milieu du ^{xix}^e siècle, c'est à elle qu'est imputable le treizième des décès sans compter les aveugles et les défigurés. Cependant Médecins et Guérisseurs orientaux, chinois en particulier, pratiquent la variolisation : au moyen de petites scarifications superficielles, ils insèrent dans la peau la sérosité d'une pustule de variole bénigne. Il faut attendre le début du ^{xviii}^e siècle pour que cette vieille pratique orientale pénètre en Europe, où elle se heurte d'ailleurs à beaucoup de scepticisme. Elle trouve ses premiers adeptes en Angleterre, grâce aux travaux de deux médecins grecs, Pylarino et Leduc, grâce surtout à l'audace de Lady Montagüe qui, après avoir observé les bienfaits de l'immunisation à Constantinople, n'hésite pas à faire vacciner ses propres enfants. Dès 1745, dans un hôpital de Londres, on « variolise » suivant la méthode de Pylarino. Voltaire, le comte Jean Harvour Tsoulati, Tronchin, la Condamine contribuent eux aussi à l'expansion de cette méthode en Europe. Cependant le fléau ne régresse guère : si la lymphé immunise effectivement les variolisés, elle apporte en même temps le virus aux non variolisés. Pour que le remède soit efficace, il faut que tout le monde soit variolisé.

C'est alors que paraît le livre de Jenner *Sur les recherches, l'étiologie et les résultats de la vaccine* (1796). Et c'est à

Jenner qu'on doit la disparition à peu près complète de la variole en Europe. Il montre, en effet, par des observations précises et des preuves expérimentales, qu'on peut substituer à la sérosité des pustules de variole celle des pustules de cow-pox. La variolisation devient la vaccination (vacca = vache). Jenner doit subir des objections sans nombre, et fournir des preuves répétées ; l'histoire des deux héros de sa première démonstration : Sarah Nelmes et James Phipps, est universellement connue. L'une des grandes difficultés, cause de nombreux échecs, est la distinction entre le vrai cow-pox, qui seul immunise contre la variole, des autres maladies pustuleuses de la vache, ou faux cow-pox, qui peuvent être confondues avec lui. Autre difficulté : le cow-pox rend les vaches impropres à la lactation. Mais la lymphe des pustules du cow-pox, qui a évolué sur l'homme, a les mêmes propriétés immunisantes que celle des pustules du cow-pox des bovidés. Jenner songe à employer la vaccination de bras à bras, comme se pratiquait l'ancienne variolisation. En France, le duc de la Rochefoucauld-Liancourt, émigré en Angleterre lors de la Révolution, est le fondateur et le premier président « de la Société et du Comité Central de Vaccine ». Le premier essai de vaccination par Colladon échoue, mais est bientôt réparé par les inoculations réussies de Woodville, en 1800. En 1805, Napoléon prescrit la vaccination des soldats.

Depuis cette époque, l'histoire de la lutte antivariolique en France peut se subdiviser en trois grandes périodes. La première est caractérisée par l'extension de la méthode jennérienne et par les discussions qui ont permis d'accréditer la revaccination. Pour faciliter la transmission du vaccin de bras à bras, on crée des Comités de vaccine dans les chefs-lieux de département, et même dans les sous-préfectures. Parfois une variole bénigne apparaît chez un ancien vacciné, ce qui donne lieu à de longues discussions où l'activité du vaccin est mise en doute par certains, tandis que d'autres soutiennent la nécessité de la revaccination. Grâce à Bousquet, alors directeur de l'Institut de la Vaccine, à Magendie, qui enraye l'épidémie de variole de 1845 à l'Hôtel-Dieu, l'utilité de la revaccination est établie.

La seconde période correspond à la lutte pour l'emploi exclusif de la vaccination animale. Dès le début de la pratique jennérienne, la transmission de la syphilis hante l'esprit des médecins et du public. La syphilis vaccinale est une rareté, mais elle existe. Depaul, directeur de la Vaccine, le proclame à la tribune de l'Académie de Médecine en 1864. Cependant, devant le danger tellement plus grand d'une nouvelle extension de la variole, on continue la vaccination de bras à bras. Jusqu'à 1889, la vaccination animale n'est employée qu'accessoirement. Les efforts échelonnés sur plus de 40 ans de Viennois, Lannois, Chambon, Depaul, Blot, Fournier, aboutissent à la seule vaccination de génisse à bras et à l'emploi de la pulpe vaccinale préalablement récoltée sur génisse.

Enfin, la proclamation de la loi sur la vaccination obligatoire, le 15 février 1902, marque le début de la troisième période. En même temps, un certain nombre de décrets sur la préparation et le contrôle du vaccin sont promulgués. D'ailleurs l'emploi de la pulpe vaccinale préparée à l'avance facilite grandement les opérations.

Depuis l'application convenable de la loi de 1902, on peut dire que la variole a presque totalement disparu en France.

Préparation du vaccin animal

OBTENTION DE LA PULPE. — En France, on doit utiliser, pour les vaccinations publiques, le vaccin de génisse. On le produit dans des « Instituts vaccinaux ou Centres vaccinogènes », soumis au double contrôle de la Commission départementale d'Hygiène et de l'Institut Supérieur de Vaccine à l'Académie de Médecine, dont la mission est de contrôler et de conserver les semences vaccinales. Dans tous les établissements vaccinogènes, les procédés de culture et de préparation sont conformes aux règles prescrites par les circulaires ministérielles. Le mode opératoire, dans ses grandes lignes, est simple. L'inoculation du virus vaccinal se fait sur les flancs de la génisse, préalablement rasés et lavés à l'eau savonneuse, puis scarifiés superficiellement. La

récolte a lieu le 5^e ou 6^e jour après l'inoculation. La surface couverte de pustules est savonnée, lavée à l'eau stérile tiède et raclée. On obtient ainsi la « pulpe vaccinale ». Cette pulpe est soit mise en réserve, soit immédiatement broyée et tamisée en présence de glycérine. En rendant utilisable la pulpe des pustules, la glycérine a fait faire un grand progrès à la diffusion de la vaccine, car le rendement en pulpe est bien supérieur au rendement en lymphe. Ce sont les pulpes, glycélinées dans la proportion de 45 à 60 %, qui sont communément employées sous le nom de « vaccin antivariolique ». Aux colonies, on emploie un vaccin sec, qu'on mélange extemporanément au liquide glyciné.

PURIFICATION. — Les soins apportés aux cultures du vaccin ont pour double but de lui donner une activité et une pureté suffisantes. Par son mode d'obtention, la pulpe vaccinale contient toujours un certain nombre de germes adventices, hôtes habituels de la peau de la génisse. La purification est basée sur la plus grande résistance du virus vaccinal comparée à celle de germes associés, phénomène d'autant plus net que la température est plus basse. Chaque Institut a ses méthodes propres pour débarrasser la vaccine des germes associés. La glycérine, depuis longtemps en usage dans les Instituts, détruit lentement à la température du laboratoire les germes adventices, et ne rend le vaccin complètement inactif qu'après un temps beaucoup plus long. En fait, le dermo-vaccin ordinairement employé contient toujours quelques germes banaux, en particulier des staphylocoques (1).

CONSERVATION. — La pulpe devient inactive en 1 à 3 mois à la température ordinaire. La loi prescrit l'emploi du vaccin dans un délai de 30 jours au plus à dater de sa préparation. Parmi les facteurs multiples qui contribuent à affaiblir l'acti-

(1) Nous ne parlerons ici ni des vaccins cultivés aseptiquement à l'intérieur des organes (testicules, cerveau), dont les propriétés semblent un peu différentes et qui ne sont pas admis en France pour les vaccinations publiques, ni des cultures aseptiques sur l'allantochoirion de l'embryon de poulet, qui ne sont encore que de délicates expériences de laboratoire.

tivité des pulpes au cours du vieillissement, la chaleur est l'un des plus importants. Les recherches poursuivies à l'Institut de la Vaccine par le Professeur Camus en particulier ont montré que la pulpe congelée au moment de la récolte conserve sa virulence presque indéfiniment, sans addition d'aucune substance. Dans les mêmes conditions, la pulpe glycinée continue à s'affaiblir, mais beaucoup plus lentement qu'à la température ordinaire. Les Instituts vaccinogènes utilisent des frigorifiques entretenant une température de -10 à -15° , où les pulpes sont conservées congelées. Les germes qui se trouvent dans la pulpe brute résistent à ces températures. La pulpe glycinée est préparée au fur et à mesure des besoins et conservée elle aussi à basse température.

Contrôle du vaccin

Le laboratoire de l'Institut vaccinogène est tenu de contrôler le vaccin avant qu'il serve aux vaccinations humaines. Le vaccin ne doit être préparé que si le certificat d'autopsie de la génisse donne toute garantie sur la santé de l'animal.

Le contrôle proprement dit comprend le contrôle du degré de pureté et le contrôle de l'activité spécifique.

Le premier se fait par la méthode bactériologique ordinaire : examen qualitatif par ensemencement en tubes, examen quantitatif par ensemencement de dilutions, en boîtes de Pétri, puis calcul du nombre de germes pour 0 cc. 01 de vaccin, unité de dose pour la vaccination. En cas de doute, on inocule le germe suspect aux animaux de laboratoire. Le vaccin contient généralement quelques staphylocoques blancs, plus rarement des staphylocoques citrins ou dorés. On peut aussi y rencontrer exceptionnellement le *Bacillus mesentericus*, le streptocoque, le bacille de Friedlander, le mégathérium, le pneumocoque, des anaérobies. On y trouve encore quelques champignons : moisissures, levures et *Actinomyces*.

Le contrôle de l'activité spécifique se fait par inoculation

à la génisse et au lapin. Nous ne décrivons pas les méthodes employées, ce qui nous entraînerait trop loin de notre sujet.

En plus de ces contrôles pratiqués par les établissements vaccinogènes, le Conseil départemental d'Hygiène et l'Académie de Médecine prélèvent périodiquement des vaccins normaux et des vaccins suspects en vue d'analyses. A l'Institut Supérieur de Vaccine, lors de la détermination du degré de pureté, on observe les boîtes de Pétri pendant plusieurs jours pour voir s'il ne se développe pas de champignons.

Voici, au point de vue du degré de pureté, les résultats obtenus par l'Académie de Médecine en 1933.

Sur 132 vaccins examinés :

7 ne contenaient pas de microbes	soit	5 ‰
125 contenaient du staphylocoque	»	95 ‰
12 » du <i>B. subtilis</i>	»	9,9 ‰
1 » du streptocoque		0,75 ‰
3 » des anaérobies	»	2 ‰
61 » des champignons	»	45 ‰

et parmi ces derniers :

16 <i>Actinomyces</i>	soit	12 ‰
1 levure rose	»	0,75 ‰
44 autres moisissures	»	33 ‰

En 1934, sur 62 vaccins examinés,

5 ne contenaient pas de microbes	soit	8 ‰
57 contenaient du staphylocoque	»	92 ‰
6 » du <i>B. subtilis</i>	»	10 ‰
2 » un anaérobie	»	3 ‰
30 » des champignons	»	49 ‰

et parmi ces derniers :

3 <i>Actinomyces</i>	soit	5 ‰
2 levures roses	»	3 ‰
26 autres moisissures	»	41 ‰

C'est le pourcentage élevé de champignons trouvés dans

le vaccin, d'*Actinomyces* en particulier, qui incita M. le Dr. Camus à nous faire étudier un certain nombre de souches, trouvées au cours des essais.

Technique générale

CULTURE. — Nous avons étudié les caractères cultureux des champignons sur les milieux suivants :

Gélose glucosée à 2 % :

Glucose massé Chanut	20 gr.
Peptone granulée Chassaing	10 gr.
Gélose en branches.....	20 gr.
Eau de source	1.000 gr.

Ce milieu est acide est a pour pH 5,5.

Gélose glucosée à 6 % ou milieu d'épreuve de Sabouraud :

Glucose massé Chanut	60 gr.
Peptone granulée Chassaing	10 gr.
Gélose en branches.....	20 gr.
Eau de source	1.000 gr.

Gélose non glucosée ou milieu de conservation de Sabouraud :

Peptone granulée Chassaing	30 gr.
Gélose	20 gr.
Eau ordinaire.....	1.000 gr.

Milieu de Czapek, modifié par Dox et Thom :

Glucose	30 gr.
Nitrate de sodium	2 gr.
Phosphate monoacide de potassium	1 gr.
Chlorure de potassium.....	0 gr. 50
Sulfate de magnésium crist.....	0 gr. 50
Sulfate ferreux.....	0 gr. 01
Gélose	15 gr.
Eau	1.000 gr.

milieu sensiblement neutre de pH 7 à 7,5.

Pomme de terre
Carotte
Gélatine
Sérum coagulé
Liquide de Raulin :

Sucre candi	70 gr.
Acide tartrique	4 gr.
Nitrate d'ammonium.....	4 gr.
Phosphate d'ammonium	0 gr. 60
Carbonate de potassium	0 gr. 60
Carbonate de magnésium	0 gr. 40
Sulfate d'ammonium	0 gr. 25
Sulfate de zinc	0 gr. 07
Sulfate ferreux.....	0 gr. 07
Silicate de potassium	0 gr. 07
Eau	1.500 gr.

Pour l'étude des *Actinomyces*, nous avons utilisé, en plus des milieux précédents :

- la gélose peptonée maltosée à 4 %
- l'eau peptonée glucosée à 2 %.
- la pomme de terre glycérinée, milieu de pH 5,5 environ
- l'eau de pomme de terre, de pH 7,8
- le lait dégraissé neutralisé
- l'empois d'amidon à 10 %.

MORPHOLOGIE. — Dans l'étude de la morphologie, nous avons suivi 3 procédés :

- examen des cultures dilacérées
- observation du développement en cellule de Van Tieghem.

- observation du développement sur lames.

Ce dernier procédé de culture sur lames, dû à MM. Rivalier et Seydel (1932), modifié par M. le Dr Langeron, nous a été surtout très utile dans l'étude des *Actinomyces*.

Pour l'appréciation des couleurs, nous nous sommes rapportée au Code de Klincksieck et Valette.

Toutes les figures ont été dessinées par nous à la chambre claire.

Nomenclature des champignons étudiés

Les souches qui nous furent confiées par M. le Dr Camus comprennent tous les *Actinomyces* trouvés au cours des essais de l'Institut Supérieur de Vaccine au début de l'année 1933. Les moisissures (1) ont été prises parmi celles obtenues au cours des analyses effectuées à la même époque.

Les champignons étudiés se répartissent comme suit :

13 MOISSURES parmi lesquelles :

7 PENICILLIUM :

- 2 *P. citreo sulfuratum* Biourge 1923
- 1 *P. frequentans* Westling 1911
- 1 *Citromyces ramosus* Bainier et Sartory 1913
- 1 *P. luteum* Zukal 1888
- 1 *P. lanosum* Westling 1911
- 1 *P. commune* Thom 1910.

6 SCOPULARIOPSIS :

- 1 *S. brevicaulis* var. *glabra* Thom 1910
- 1 *Acaulium nigrum* Sopp 1912
- 2 *Acaulium nigrum* var. *glabrum* nov. var.
- 1 *S. Brumptii* nov. Sp.
- 1 *S. versicolor* nov. Sp.

9 ACTINOMYCES, qui se divisent en :

8 majores :

- 5 *Actinomyces albus* (Rossi Doria 1891) Krainsky A. 1914
- 1 *Actinomyces viridis* Duché 1934
- 1 souche constituée par *A. albus* avec quelques spores d'*A. viridis*.
- 1 *A. Almquisti* Duché 1934.

1 minores :

- 1 *A. Langeroni* nov sp.

Il est intéressant de remarquer que ces champignons appartiennent à un petit nombre de familles : spécialement

(1) Au cours de ce travail, nous avons désigné, pour plus de rapidité, sous le nom de moisissures l'ensemble des *Penicillium* et des *Scopulariopsis*.

les moisissures ne sont représentées que par 2 familles très voisines.

Ce sont probablement des champignons à la fois très banaux et très résistants. Nous avons observé leur résistance en particulier vis-à-vis de la glycérine. Nous avons mis les spores des diverses Souches en contact 1 mois avec de la glycérine diluée au 1/4 dans de l'eau physiologique, puis nous les avons réensemencées. Toutes les souches ont repoussé. Les moisissures avaient même donné un léger voile sur la glycérine au 1/4. Les spores conservées 1 mois et demi dans la glycérine pure ont, après réensemencement, donné les résultats suivants : les moisissures n'ont pas repoussé ; les *Actinomyces* ont repoussé à l'exception de l'*Actinomyces* du groupe *Minores*.

CHAPITRE II

PENICILLIUM LINK

Link en 1809 crée le genre *Penicillium* pour les champignons à conidiophore dressé, terminé par un ensemble plus ou moins compliqué de ramifications. Parmi ces ramifications, un groupe seulement ne peut jamais faire défaut, ce sont les phialides. Ces phialides portent des conidies en chapelets.

Penicillium citreo-sulfuratum BOURGE 1923

Souches N° 217 et 225

Ces deux souches présentant les mêmes caractères cultureux et microscopiques sont identiques. Il s'agit d'un *Penicillium* monoverticillé.

CARACTÈRES CULTURAUX. — Développement assez lent et modéré, colonies rases.

Sur gélose glucosée à 2 %, après deux jours à 26°, apparaissent de petites houppes blanches, peu saillantes, qui, vers le 4^e jour, deviennent vert bleu pâle 378 B au centre et gris blanc sur les bords, tandis que le revers, d'abord blanc, se teinte de jaune 196 sur les bords et de jaune plus foncé 178 au centre. Puis, peu à peu, la teinte de la face supérieure, après avoir atteint un maximum vers le 9^e jour (173), pâlit vers les 222-197-172. Les colonies alors saillantes, avec un bord absolument plat, s'effondrent au centre et prennent un aspect mamelonné, plus ou moins régulier ; parfois des sillons rayonnés partent du centre vers les bords. Le revers devient

jaune 177-182 avec centre 178. La gélose se teinte en jaune 202 après deux semaines. Les colonies veloutées, rases, portent de nombreuses gouttes de liquide exsudé jaune 241-, 227, surtout abondantes sur les colonies développées à la partie inférieure des tubes de gélose.

La teinte des colonies n'est pas uniforme ; certaines parties sont plus ou moins gris vert virant au beige au cours du vieillissement ; d'autres portent des repousses blanchâtres assez rares, soit seulement au centre, soit irrégulièrement disposées ; d'autres sont jaunâtres, ce qui est dû au liquide exsudé.

Après 1 mois et demi à 4 mois, les colonies prennent une teinte 98-143, avec quelques parties blanchâtres ; le revers devient 166-157, et la gélose est entre 186 et 166, teintes que gardent les vieilles colonies.

Sur *gélose glucosée* à 6 %, le développement est sensiblement le même, mais les teintes deviennent plus foncées. Après 6 jours, la face supérieure est vert 348 ; en haut du tube, le revers est 177-182 ; il est couleur 129 pour les colonies situées vers le bas. Puis, au bout d'une quinzaine de jours, la teinte de la face supérieure passe au 148-149, celle du revers au 153 vers le haut, 159 foncé presque noir vers le bas, celle de la gélose au jaune vert 179. Après un mois, la face supérieure est 143, avec quelques repousses blanchâtres assez rares. Par endroits, les gouttes de liquide exsudé sont jaune 206-202 ; le revers est toujours 152-153-159 et la gélose 179. Le développement est bon sur ce milieu.

La carotte est un milieu très favorable. Le développement y est plus précoce et plus riche que sur gélose. Au bout de 24 heures à 26°, les petites houppes blanc gris sont déjà visibles. Elles passent peu à peu au vert-de-gris pâle le 6^e jour, puis au 242-243 vers le 10^e jour. En même temps, l'eau de carotte se colore peu à peu en jaune 206. La teinte tourne au beige 143 vers 1 mois 1/2 ; l'eau devient 181. Ce sont là les teintes définitives que gardent les colonies en vieillissant. Les colonies sont veloutées, beaucoup plus poudreuses et moins rases que sur gélose, de teinte uniforme, sans repousses blanches.

Sur *milieu de Czapek*, après six jours à l'étuve à 26°, les

colonies sont gris vert clair au centre et encore blanches sur les bords ; le revers est jaune soufre. Au bout d'une quinzaine de jours, les colonies sont jaune vert 192 ; le revers est 176-177 et le Czapek s'est coloré en 201-202. Les colonies sont d'abord saillantes, puis le centre s'affaisse en vieillissant et elles prennent un aspect cratériforme à bord intérieur incliné en pente douce. La teinte de la face supérieure passe au beige 143. Les colonies en vieillissant deviennent poudreuses, parce que les files conidiennes sur ce milieu sont plus longues et plus grêles que sur gélose. Elles sont sans repousses blanches.

Sur liquide de Raulin se développe, au bout d'une semaine environ, un voile d'abord blanc, puis vert bleu pâle 372, à la face supérieure, et jaune 186 au revers. Après quinze jours, le voile fortement ridé prend une teinte beige qui s'accroît peu à peu jusqu'au 143. Le revers devient jaune 201 et le liquide 206-211 en vieillissant.

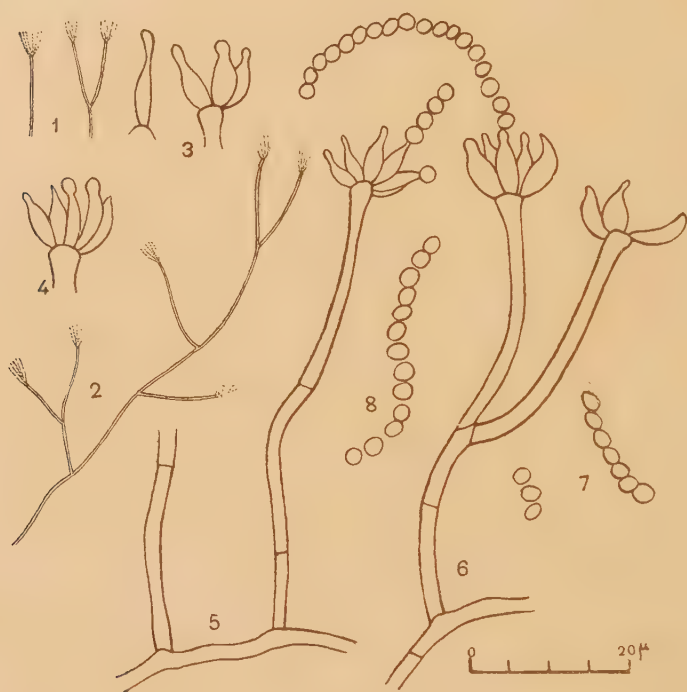
La liquéfaction de la *gélatine* est très lente : un centimètre au bout d'un mois et demi.

La *température* optima de développement est 22°-25°. Le développement mycélien à 37° est pauvre et les appareils conidiens ne se forment pas. Les colonies restent blanches.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — L'examen microscopique montre des filaments mycéliens fins et lisses, mesurant de 1 μ à 1 μ ,5 ou 2 μ de diamètre, et formant un feutrage serré. Les hyphes aériennes mesurent de 1 μ à 3 μ ,5 ; parfois elles sont beaucoup plus grossières et mesurent jusqu'à 5 μ . Elles portent des conidiophores dressés, généralement simples, de longueur variable : 12 à 70 μ sur 1 μ ,5 à 2 μ ,5 de diamètre (fig. 5 et 6). La tête des conidiophores, légèrement renflée, de 2 μ ,5 à 4 μ ,5 porte de 3 à 12 phialides de 6-8 μ sur 1 μ ,5 à 2 μ , légèrement renflées en leur milieu (fig. 3-4). Parfois le conidiophore se divise en 2 métules de 10 à 25 μ sur 1 μ ,5 à 2 μ , dont la tête, également renflée, supporte les phialides. Tous ces éléments sont lisses. Les conidies, petites, rondes ou subglobuleuses (fig. 7-8) de 1 μ à 3 μ de diamètre, possèdent une paroi assez épaisse et lisse. Le réactif de Melzer est sans action sur elles. Sur gélose glucosée à 2 %, les files

conidiennes ont en moyenne 30 μ jusqu'à 150 μ . Sur Czapek, ces files plus longues et plus grêles mesurent jusqu'à 400 μ .

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Les caractères macroscopiques et microscopiques de ce *P. monoverticillé* permettent



P. citreo-sulfuratum Biourge : 1, schéma des conidiophores ; 2, aspect en culture sur lame ; 3, 4, tête renflée du conidiophore et détail des phialides ; 5, 6, appareils fructifères ; 7, 8, files de conidies mûres.

de l'identifier au *P. citreo-nigrum* Dierckx, in Thom 1930 — *P. subcinereum* Westling 1911. Le pigment jaune soufre qu'il produit sur tous les milieux semble en faire le *P. citreo-nigrum*, variété *sulfurea* Dierckx ou *P. citreo-sulfuratum* Biourge 1923.

Penicillium frequentans WESTLING 1911

Souche N° 911

CARACTÈRES CULTURAUX. — Pousse bien sur tous les milieux usuels.

Sur gélose glucosée à 2 %, à l'étuve à 26°, il donne, au bout de 24 heures, de petites houppes blanches, qui se teintent de vert bleu pâle 366 au centre après 2 jours, avec revers 178 B. Vers le 4^e jour, la couleur est 339-343, les colonies sont veloutées avec au centre un bouquet d'hyphes aériennes un peu plus saillant. On y voit quelques gouttelettes exsudées, incolores ; le revers est 178 D, avec sur le bord une tache rose 122. Après 15 jours, les colonies sont veloutées, non saillantes, de teinte uniforme vert profond 319-315 ; revers presque blanc 178 B vers le haut, jaune 171 vers le bas, présentant quelques taches roses 93-122 à la base et au bord. Puis la teinte perd son éclat, passe au 270 vers le 20^e jour. Après 2 mois 1/2 elle est vert marron 165 ; le revers a quelques taches roses 88-93. Les vieilles colonies sont marron 135, avec au revers des taches rose foncé 93-88.

Sur gélose glucosée à 6 %, le développement est bon. Les colonies apparaissent sous forme de petits bouquets blancs, prenant rapidement un aspect velouté. En même temps, la couleur passe au vert 334-339. Au centre de la colonie plate apparaissent quelques hyphes en bouquets. Après 2 semaines les colonies veloutées passent au 315-310, avec revers 153 D dans le haut, portant à la base des taches rouges 68 sale. Sur ce milieu, la teinte verte persiste plus longtemps que sur le précédent. Au bout d'un mois et demi, les colonies sont encore vert 315. Elles sont aussi plus épaisses. En vieillissant elles prennent un aspect beaucoup plus poudreux que sur gélose glucosée à 2 %, parce que les pinceaux conidiens sont plus fournis et plus longs.

Sur carotte le développement se fait bien. Au bout de 5 jours, les colonies sont veloutées, vert foncé 334-339. Cette teinte persiste longtemps ; après un mois et demi, elle

est encore 339. Sur l'eau de carotte se développe un voile de même teinte, à revers blanc. L'eau ne se colore pas. Les vieilles cultures de 3 à 4 mois et plus deviennent 300 sale. Le revers du voile rosit légèrement 53 A et l'eau de carotte jaunit 153 D.

Sur milieu de Czapek le développement est un peu plus lent. Après 3 jours à 26°, les colonies sont vert clair au centre et blanches autour. Elles passent au 339 vers le 6^e jour, puis au 315 après deux semaines. La face inférieure, d'abord blanche, se teinte de rose pâle ; le Czapek est encore incolore. Au bout d'un mois et demi, la face supérieure est vert sale 175, le revers est 78 D-92 en haut, 93 en bas, et le Czapek est rose sale 91. Ce pigment rose passe au jaune pâle par acidification et revient au rose par alcalinisation ; ce qui explique très probablement l'absence du pigment rose sur nos géloses glucosées à 2 et 6 %, acides et de pH 5,5 environ, tandis qu'il apparaît sur Czapek neutre. Les colonies en vieillissant deviennent poudreuses.

Sur liquide de Raulin se développe un voile d'abord blanc, puis verdissant sur les bords. Après 15 jours, il est 338-339, avec revers blanc et liquide de Raulin incolore. En vieillissant il passe au 140 et le revers devient rose 92-97-122 sale. Le liquide de Raulin se colore légèrement en rose beige 103 C sale.

La gélatine est complètement liquéfiée en 12 jours.

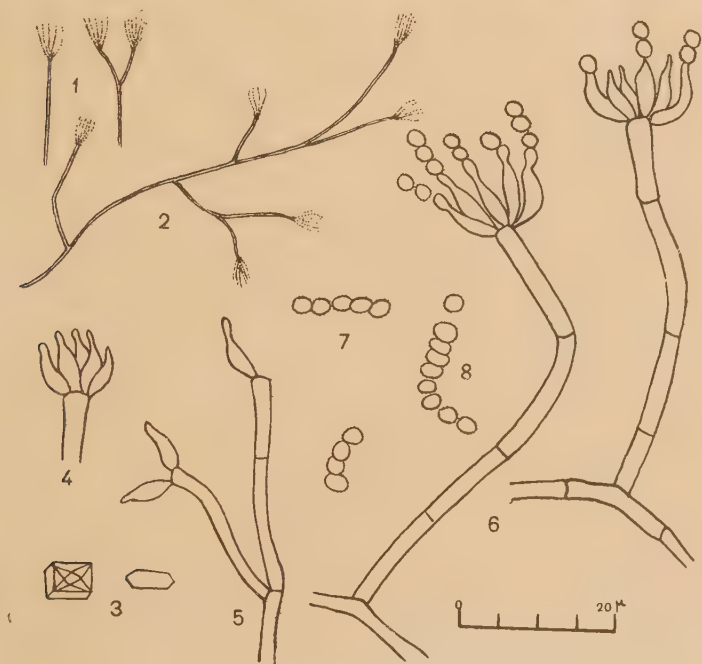
En milieu glucosé, il se produit de l'acide citrique, décelé par la réaction de Denigès.

La température optima de développement est 25-26°. Les cultures poussent péniblement à 37°, et les appareils conidiens sont peu nombreux.

L'odeur est nulle ou l'on perçoit une faible odeur de moisi.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — Le thalle est constitué par un mycélium de 1 μ à 2 μ ,5. Les hyphes aériennes mesurent de 1 μ à 3 μ ; elles peuvent être plus larges, jusqu'à 5 μ . Elles portent des conidiophores presque toujours simples, souvent assez courts, de longueur variable, 30 à 100 μ sur 1 μ à 3 μ de diamètre (fig. 6), s'élargissant de la base

vers le sommet, à tête légèrement renflée jusqu'à $4\ \mu$. Les conidiophores se divisent parfois en 2 métules de 15 à $35\ \mu$, sur 2 à $3\ \mu$ de diamètre (fig. 5). Ils portent de 3 à 12 phialides de 7 à $10\ \mu$, sur $1\ \mu$, 5 à $2\ \mu$ de diamètre (fig. 4). Ils ont un contenu granuleux et une paroi lisse. Les conidies rondes ont de $1\ \mu,5$ à $3\ \mu,5$. A l'objectif à immersion, leur paroi apparaît légèrement échinulée (fig. 7-8). Les chaînes coni-



P. fréquentans Westling : 1, schéma des conidiophores ; 2, aspect en culture sur lame ; 3, cristaux ; 4, détail des phialides ; 5, ramification ; 6, appareils fructifères dressés ; 7, 8, conidies légèrement échinulées.

diennes sont serrées, en masses dressées en colonnes. Sur gélose à $2\ \%$, elles mesurent de 40 à $250\ \mu$. Sur Czapek, elles sont plus longues et mesurent jusqu'à $400\ \mu$. Sur gélose à $6\ \%$, elles sont aussi très longues, serrées et dressées, et nettement visibles à la loupe, jusqu'à $600\ \mu$.

Les cultures en milieu sucré sont très abondamment parsemées de cristaux de dimensions variables. Les uns, petits, allongés, les autres en forme d'enveloppe de lettre;

solubles dans l'acide sulfurique dilué : ce sont très probablement des cristaux d'oxalate (fig. 3).

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Ce *Penicillium* monoverticillé, d'un vert profond, se rapproche, par l'ensemble de ses caractères et en particulier par ses spores légèrement échinulées, des *Penicillium* groupés par Thom (1930) sous le nom de « *P. Pfefferianum* série ». Il s'en éloigne par l'aspect strictement velouté de ses colonies, par ses conidiophores généralement assez courts, tandis que les champignons de ce groupe ont des colonies floconneuses et des conidiophores souvent très longs. Aussi semble-t-il se rapprocher davantage de la série, d'ailleurs très voisine, des *Penicillium glabrum*, dont les caractères généraux sont les suivants : « Colonies veloutées, se développant bien d'habitude, d'un ton vert profond à vert foncé, devenant le plus souvent marron en vieillissant. Le revers de quelques espèces est incolore ; le plus souvent il va du jaune à l'orange, devenant orangé brunâtre ou rouge orangé, ou même presque rouge en vieillissant, dans les cas extrêmes. Conidiophores dressés, non ramifiés ou seulement ramifiés une fois près du sommet, chaînes de conidies en colonnes, devenant très longues. Conidies le plus souvent de 3 à 4 μ , apparemment lisses dans quelques familles, finement granuleuses ou épineuses dans les autres, sans autres caractères distinctifs. » Thom 1930, p. 215.

La couleur, l'aspect velouté, la forme et la longueur des pinceaux conidiens, la liquéfaction de la gélatine, les nombreux cristaux en cultures sur milieu sucré font de la souche étudiée un champignon de ce groupe et plus particulièrement un *Penicillium frequentans* Westling 1911.

Citromyces ramosus BAINIER ET SARTORY 1913

Souche N° 9.112

CARACTÈRES CULTURAUX. — Développement modéré, colonies rases.

Sur gélose glucosée à 2 %, au bout de 2 jours à 26°, petits points mycéliens blancs, à peine visibles, qui se développent

et deviennent vert bleu clair 371. Vers le 6^e jour, le centre des colonies est vert 347-348, le bord blanc sur 1 à 2 millimètres. Certaines colonies sont un peu saillantes, d'autres présentent déjà une dépression centrale entourée de sillons rayonnés plus ou moins irréguliers. Elles sont veloutées, rases. Le revers est pâle 0246. Après 15 jours, les colonies sont gris bleu 499 clair avec quelques parties 503 A ; elles portent quelques repousses blanc rosé, rases, et présentent des gouttes exsudées rose 0121-121 ; le revers est blanc rosé, surtout visible sur les bords ; à travers la gélose il paraît 146. Puis les colonies deviennent gris violacé 569-574 vers le 20^e jour, 573-73 vers 1 mois. Les colonies ne sont pas de teinte uniforme : certaines parties sont gris violacé, virant au noisette 143 clair au cours du vieillissement ; d'autres portent des repousses blanc rosâtre, d'autres enfin sont rosées par les gouttes de liquide exsudé. La teinte s'uniformise un peu en vieillissant. Les colonies deviennent noisette 143-122, avec des repousses rases blanc rosâtre ; elles sont plates et ridées.

La gélose glucosée à 6 % donne un développement analogue, mais les colonies sont plus épaisses et les teintes plus vives. Après 5 jours, la face supérieure est bleu vert 348-367, avec bord blanc, le revers 171-166. Au bout de 2 semaines la teinte tourne au vert 323-324, avec de grosses et nombreuses gouttes exsudées rose pêche 53 A-071. Le revers au bord est 071 ; par transparence à travers la gélose il paraît 121-141. La face passe au jaune vert 274, puis au bout d'un mois au 143-135, avec revers 121-141. Les colonies portent des repousses blanc rosé, en bouquets serrés et saillants d'environ 0 mm. 5.

Sur carotte, le développement est plus précoce. Après 24 heures à 26°, de petites colonies blanc grisâtre de 1 à 2 millimètres de diamètre sont déjà visibles. Elles passent au vert pâle 371 vers 5 ou 6 jours, puis au 347-348 vers 2 semaines. Après un mois et demi, elles sont marron rosé 122-143. Sur l'eau de carotte se développe un voile de même teinte à revers blanc rosé 103 B. Les vieilles colonies deviennent marron 143-93 et l'eau jaunît 171.

Sur milieu de Czapek, le développement est assez lent.

Au bout de 6 jours, petites colonies saillantes, blanches au centre, vert pâle 372 à la périphérie, bordées d'un large anneau blanc. Après 2 semaines, la teinte a foncé au 348-368, avec parties 222. Au centre des colonies se trouve un bouquet d'hyphes aériennes un peu plus saillant ; le revers est blanc, le Czapek incolore. Les colonies portent quelques gouttes exsudées, rose pâle 53 A. Leur couleur passe ensuite au 239-240, pour devenir marron 114-115 vers 2 mois, avec revers rosé 121-103 C-103 A. Le Czapek est rose 121-128 C. Les colonies sont plates et poudreuses ; quelques-unes portent des repousses blanches floconneuses.

Sur liquide de Raulin se développe un voile d'abord blanc, passant au gris vert 372-367, avec face inférieure blanche au bout d'environ une semaine. On voit quelques flocons mycéliens au fond du tube. Le voile se plisse, passe au vert 368-349 après 15 jours. Après 2 mois 1 2, il est marron clair, entre 122-143, avec revers blanc rosé 103 A et liquide incolore ; la face supérieure porte une petite repousse blanche.

La gélatine est très lentement liquéfiée : 1 cm. 1/2 après 45 jours.

En milieu glucosé il se produit de l'acide citrique.

La *température* optima de développement est 22-26°. A 37°, le mycélium se développe maigrement, les colonies demeurent blanches, il ne se forme pas d'appareils conidiens.

Odeur faible ou à peine sensible de renfermé.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — L'examen microscopique montre un thalle serré, avec des hyphes fines, d'aspect chevelu, ayant tendance à s'enrouler en cordons. Les hyphes aériennes ont de 1 μ ,5 à 2 μ ,5 de diamètre, quelques filaments plus larges mesurent jusqu'à 4 μ , 5. Les conidiophores fins, cloisonnés, ont un diamètre de 1,5 à 3 μ , avec une tête renflée en haltère jusqu'à 3,5 à 5 μ (fig. 5). Leur longueur est très variable, ils ont de 25 à 170 μ . Parfois simples, ils sont en général irrégulièrement ramifiés (fig. 7-8-9). Souvent le conidiophore se divise à sa partie supérieure en 2-3-4 métules disposées en verticilles (fig. 6) ; ces métules de 7 à 25 μ de long, 15 μ en moyenne, sur 1 μ , 5 à 2 μ , 5 de diamètre, renflées au sommet 4 μ , 5 portent des phialides en

nombre variable 2-4-6-9. Ces phialides sont de forme irrégulière : certaines sont longues et élancées, d'autres courtes et trapues de $6\ \mu$ à $13\ \mu$ sur $1\ \mu$, 5 à $3\ \mu$ 5 de large (fig.



C. ramosus Bainier et Sartory : 1, Schéma des ramifications ; 2, aspect en culture sur lame ; 3, détail d'une phialide ; 4, files de conidies mûres ; 5, tête renflée portant des phialides ; 6, 7, détails des ramifications ; 8, 9, appareils fructifères dressés et ramifiés.

3-5). Tous ces éléments sont lisses. Les conidies sont lisses, rondes et mesurent de $1\ \mu$, 5 à $3\ \mu$, 5 (fig. 4). Le réactif de Melzer est sans action sur elles. Sur gélose à 20‰, elles sont en pinceaux courts et légèrement divergents, mesurant

de 15 μ à 100 μ environ. Sur Czapek et sur gélose à 6 %, ces pinceaux sont plus longs et plus grêles, ils mesurent jusqu'à 50-70 μ , parfois 300 μ . C'est ce qui contribue à donner à ces colonies un aspect plus poudreux sur ces milieux que sur gélose à 2 %.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Ce *Penicillium* est un monoverticillé rameux. Son mycélium poussant lentement en formant un feutrage serré difficile à dilacérer, le mode de ramification de ses conidiophores, les dimensions de ses divers éléments, la couleur de ses colonies avec des gouttes exsudées rose pêche et le revers de même teinte permettent de l'identifier au *Citromyces ramosus* Bainier et Sartory 1913.

Penicillium luteum ZUKAL 1888

Souche 148

CARACTÈRES CULTURAUX. — Très bon développement sur les milieux usuels.

Sur gélose glucosée à 2 %, les colonies apparaissent après 24 heures à 26°. Au bout de 2 jours, elles sont bleu 366 au centre, bordées de blanc jaunâtre par transparence de la couleur du revers qui est jaune orangé 151. Après 5 jours, les colonies sont un peu laineuses, vert 343 vif ; elles portent de nombreuses gouttelettes exsudées incolores ; le revers est plus pâle qu'au début, 176 en haut, 151-156 en bas. Après une semaine, les colonies d'un beau vert, avec souvent au centre un bouquet d'hyphes un peu saillant, portent parfois quelques sillons rayonnés : le bord blanc a disparu. La teinte passe au vert 323, puis, au bout de 15 jours, au 370-350, tandis que le jaune du revers s'atténue et passe au 166 en haut, 156 sale en bas. Après un mois, la face est marron 74, puis 98-94-95 avec revers 161 après 2 mois et plus. En vieillissant, les colonies prennent un aspect plus velouté. Elles ne portent pas de repousses blanches.

Sur gélose glucosée à 6 % le développement est bon et rapide. Après 5 jours à 26°, les colonies sont épaisses, laineuses, vert 343, avec quelques gouttelettes exsudées inco-

lores ; le revers est orangé vif 126-127. Au bout de 2 semaines, la face est toujours 343, le revers moins vif 151-152. La couleur verte des colonies et la teinte orangée du revers persistent beaucoup plus longtemps sur ce milieu que sur 2 %. Les colonies, après un mois, sont encore vert 343-349, avec revers orangé 152-128. Sur ce milieu, les colonies sont plus épaisses que sur 2 %.

Sur carotte : Bon développement. Après 24 heures, présence de petites colonies blanc vert. Au bout de 5 jours, les colonies sont veloutées, vert franc 334 qui persiste longtemps, puis s'atténue, passe au 323-298-273, teinte que gardent les vieilles cultures. Sur l'eau se développe un voile de même teinte. L'eau de carotte jaunit un peu 161.

Sur milieu de Czapek le développement est plus lent. Après 3 jours à 26°, les colonies sont petites, blanches. Le 6^e jour, elles sont vert 339, avec un bord plus foncé que le centre et un revers rosé 103 B. Au bout de 15 jours, certaines colonies sont zonées, d'autres le sont à peine : au centre, un bouquet d'hyphes aériennes vert, un peu saillant ; autour un anneau jaune (région ne portant pas d'appareils fructifères) puis un anneau vert. Ces colonies portent quelques gouttelettes de liquide exsudé incolore. L'envers est jaune rosé 103 C.D ; le Czapek est un peu rosé. Après un mois et demi, le vert passe au 349, le revers est 117-103 D. Finalement, la face supérieure passe au 349-324-323, avec des zones 98 sale. Le revers est mélangé de 103 D-117-118 et le Czapek est 103 D sale-117. Sur ce milieu apparaissent des repousses blanches, en corémiums grêles et longs, soit simples de 1 à 2 centimètres de long, soit ramifiés en 3 ou 4 fouets partant d'un même pied court de 2 millimètres environ. Les colonies sont plus veloutées, plus poudreuses que sur gélose. Le revers a tendance à être rosé au lieu de jaune orange comme sur gélose.

Sur liquide de Raulin, un voile vert pâle 346 est développé au bout de 2 jours. Il fonce et passe peu à peu au 318-343 au bout de 2 semaines, avec revers blanc jaunâtre. Le liquide de Raulin est incolore. Après 2 mois, le voile est 94-99, avec revers rose sale 93. Le liquide de Raulin est rosé sale

78 C. Au milieu du voile s'élève verticalement une repousse blanche corémiée.

La liquéfaction de la *gélatine* est à peine commencée après un mois et demi.

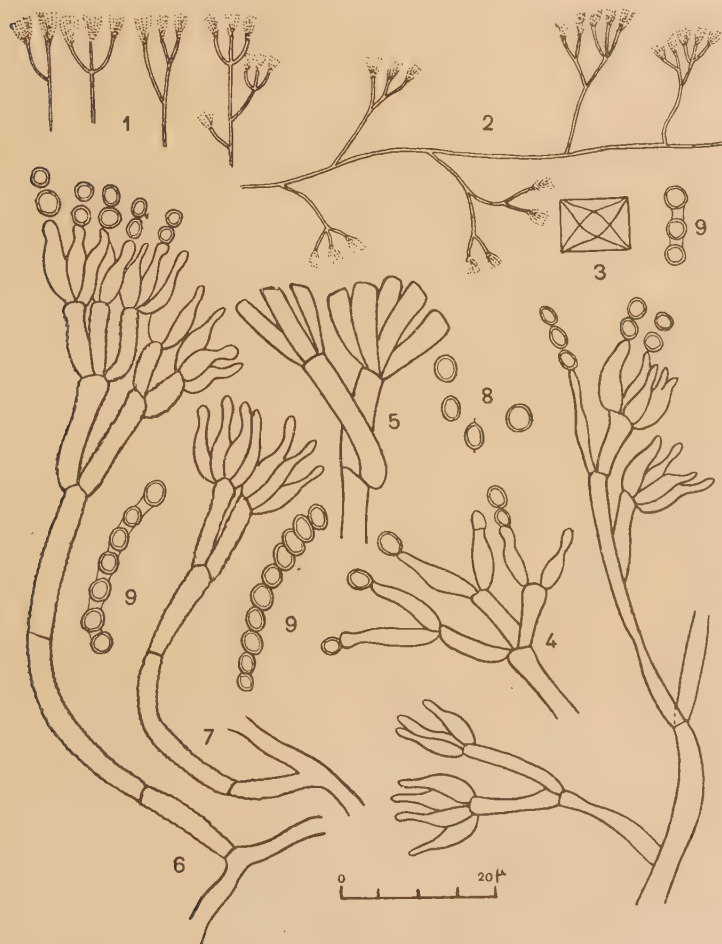
La *température optima* de développement est 22-26°. Le développement est très pauvre à 37°, les colonies sont marron clair, les appareils conidiens sont rares.

L'*odeur* est généralement faible.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — Les filaments mycéliens ont 2 μ , 5 à 3 μ , 5 de diamètre, les hyphes aériennes de 2 μ , 5 à 4 μ , certaines plus. Sur gélose glucosée à 6 ‰, les hyphes ont tendance à former des cordons partant sensiblement du centre des colonies vers la périphérie. Les unes portent des conidiophores cloisonnés, ramifiés, généralement assez longs, mesurant de 50 μ à 350 μ sur 2 à 3 μ , 5 de diamètre (fig. 6-7). Certains conidiophores sont rugueux, d'autres sont lisses. Ils se divisent en ramifications secondaires, de dimensions assez constantes, 12 à 20 μ sur 2 à 3 μ , 5, légèrement élargis au sommet 4 μ . Celles-ci portent à leur tour 2-3-4 métules de 8 à 12 μ sur 2 à 3 μ , 5 (fig. 5) portant chacune 3,4 ou 8 phialides régulières de 9 à 12 μ sur 2,5 à 3 μ (fig. 4). Les conidies, à parois épaisses, lisses, rondes, quelques-unes ovales, lémoniformes, mesurent de 2 à 4 μ , sur 2 μ , 5. Elles sont réunies entre elles par un connectif visible au microscope (fig. 9). Le réactif de Melzer est sans action sur elles. Les pinceaux conidiens ont de 40 à 400 μ sur milieu glucosé à 2‰. Les files conidiennes ont plutôt tendance à s'écarter les unes des autres. Sur Czapek, les pinceaux sont plus longs et plus grêles, 140 μ en moyenne, parfois jusqu'à 600 μ . Sur milieu sucré à 6 ‰, ils mesurent de 100 à 400 μ et sont trapus. Les cultures sur milieux sucrés sont parsemées de nombreux cristaux, semblables à ceux rencontrés dans les cultures du *Penicillium frequentans* et qui doivent être des cristaux d'oxalate.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Les caractères de ce *Penicillium* nous l'ont fait classer dans les biverticillés symétriques qui contiennent un grand nombre d'espèces plus ou

moins complètement décrites. Il se range plus particulièrement parmi les espèces groupées par Thom sous le nom de « *Penicillium luteum serie* » (non ascosporées) qui sont



P. luteum Zukal : 1, schéma des ramifications ; 2, aspect en culture sur lame ; 3, cristaux ; 4, 5, détail des ramifications ; 6, 7, appareils fructifères dressés ; 8, conidies mûres ; 9, files conidiennes avec connectif visible.

voisines des *Penicillium rugulosum* et *Penicillium purpurogenum* et dont les caractères généraux sont les suivants : « Colonies floconneuses dans les jaune et vert, avec un revers généralement jaune ou tardivement rouge. De nombreuses

espèces de ce groupẽ ont été décrites, dans lesquelles les formes conidiennes varient seulement dans le détail par rapport à un type général... Nous avons rencontré beaucoup d'espèces de ce genre qui vont des formes produisant d'abondantes conidies vertes couvrant tout le mycélium, avec seulement une trace d'hyphes jaunes stériles, à des colonies consistant surtout en hyphes stériles, avec quelques espaces verts, et finalement à des formes dans lesquelles les caractères usuels du groupe sont supprimés ; seuls demeurent quelques pinceaux biverticillés disséminés, marquant la parenté. » Thom 1930 (p. 479-480).

Dierekx, dans un manuscrit inédit de 1904, a lui aussi, décrit un grand nombre de *Penicillium* biverticillés.

Penicillium lanosum WESTLING 1911

Souche 1113

CARACTÈRES CULTURAUX. — Bon développement sur tous les milieux usuels.

Sur gélose glucosée à 2 % : après 2 jours à 26°, on voit de petits bouquets blancs sur le bord et vert clair au centre 0371. Après 5 jours, les colonies sont vert bleu clair 366-367, avec un bouquet d'hyphes un peu plus saillant au centre et un bord blanc d'environ 1 millimètre. Elles portent des gouttelettes exsudées incolores. Le revers est jaune pâle 178 D, verdâtre sur le bord par transparence. Les colonies sont assez épaisses, plutôt laineuses. La teinte passe ensuite au 338-343-348, avec revers 171-153 D. Après 2 semaines, les colonies sont vert bleu 369, la bordure blanche a disparu ; elles sont veloutées sur le bord et laineuses au centre. Vers 1 mois, elles passent au 124, puis peu à peu au marron 98-94 avec revers 146. En vieillissant, les colonies prennent un aspect plus velouté. Les colonies portent très précocement des repousses blanches floconneuses.

Sur gélose glucosée à 6 %, le développement est bon, les colonies deviennent plus épaisses, plus laineuses, la teinte verte persiste plus longtemps, le revers au lieu d'être jaune

est plus orangé. Les colonies portent précocement des repousses blanches floconneuses. Après 5 jours à 26°, les colonies bien développées sont vert 367, bordées de blanc, avec revers orangé 166. Elles passent ensuite au vert 343-348, avec revers 161 sale vers le haut, 152 vers le bas. Après un mois, elles sont 374-373 avec revers 152-127.

Sur carotte, le développement est précoce. Après 24 heures, les petites colonies blanches ont 1 à 2 millimètres de diamètre. Après 6 jours, elles sont vert 318-338, puis la teinte s'atténue, passe au 343-369-323, pour devenir finalement marron 73-99 dans les vieilles colonies. Il se développe sur l'eau un voile de même couleur, à revers devenant finalement blanc rosé sale. L'eau de carotte devient 157 clair. Les colonies portent précocement des repousses blanches floconneuses.

Sur milieu de Czapek, le développement est plus lent. Après 6 jours, les colonies sont vert bleu 367, passant au 338-343 vers 2 semaines. Elles sont légèrement saillantes, se déprimant au milieu en vieillissant, moins épaisses et plus veloutées que sur gélose. Quelques-unes sont légèrement zonées brun et vert. Puis la teinte passe au marron 124-98-99, avec quelques parties encore verdâtres, en particulier le bord. Le revers d'abord blanc rosé est devenu rosé sale 111-112-107-113, bordé de 146 sale. Le Czapek est teinté en 121-112 sale.

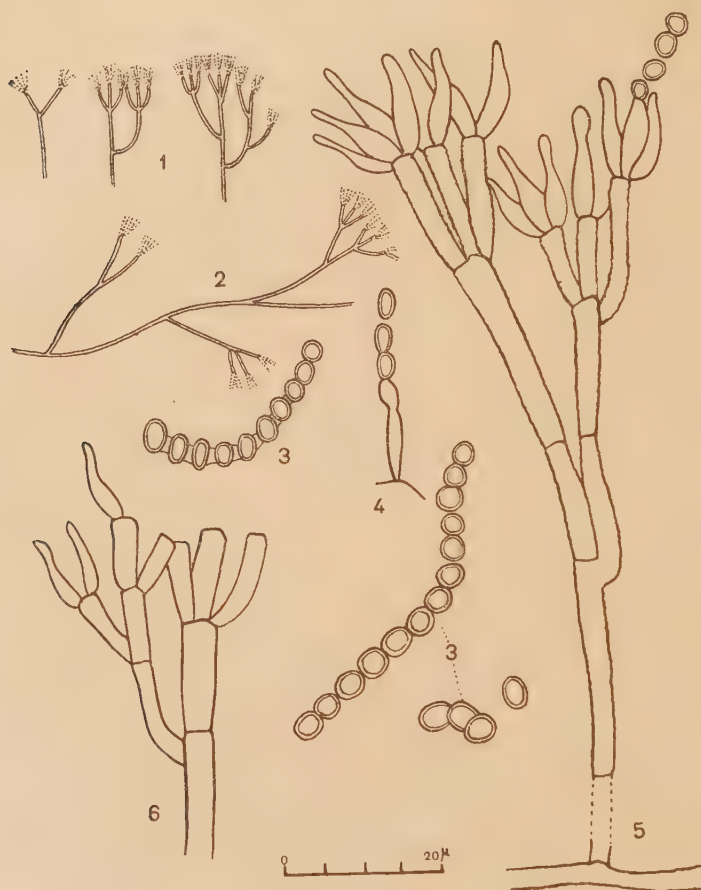
Sur liquide de Raulin, après 2 jours à 26°, s'est développé un voile blanc floconneux. Vers le 6^e jour, ce voile devient peu à peu blanc rosé, frangé de vert 347-; le revers est rosé 103 B. Après 2 semaines, il est vert 339, avec face inférieure rosé 103 C sale. Le liquide de Raulin est légèrement teinté de 103 C sale, puis la teinte s'affadit et vire au 348, puis au brun 123-124, teinte que gardent les vieilles cultures. Le voile porte précocement des repousses blanches floconneuses.

La liquéfaction de la *gélatine* est faible : 3/4 de centimètre après 45 jours.

Le développement est rapide entre 20 et 26°. Il n'a pas lieu à 37°.

L'odeur est très faible, difficile à définir, à la fois légèrement vireuse et alcoolisée.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — Les filaments mycéliens de $2\ \mu$ à $3\ \mu$, 5 forment un feutrage peu serré. Les hyphes aériennes, de 2 à $4\ \mu$, parfois plus, portent les conidiophores, de 2 à $4\ \mu$, parfois plus, portent les conidiophores.



P. lanosum Westling : 1, schéma des ramifications ; 2, aspect en culture sur lame ; 3, conidies mûres ; 4, détail d'une phialide ; 5, appareil fructifère dressé ; 6, détail des ramifications.

diophores. Ces hyphes ont tendance, sur milieu très sucré (6 %), à s'enrouler en cordons rayonnés du centre vers la périphérie. Les hyphes portent des conidiophores de longueur variable, $50\ \mu$ à $200\ \mu$ sur $2\ \mu$ à $4\ \mu$ de diamètre, un peu plus larges au sommet qu'à la base (fig. 5). Les conidiophores.

diophores cloisonnés, quelquefois lisses, quelquefois rugueux, se divisent en rameaux secondaires ayant de 12 à 40 μ sur 2 à 3 μ , 5 de diamètre, à tête légèrement renflée jusqu'à 4 μ , 5. (fig. 5-6). Ces rameaux secondaires portent à leur tour 2-3-4 métules de 8 à 15 μ sur 2,5 à 3 μ , légèrement renflées au sommet jusqu'à 4 μ . Ils supportent en général un nombre peu élevé de phialides 3 à 9, en moyenne 5 ou 6 (fig. 4-5). Les phialides sont plutôt fines et élancées, de 10 à 13 μ de long et 2 μ de large environ. Elles portent des conidies, qui, lorsqu'elles sont jeunes, apparaissent à l'objectif à immersion légèrement échinulées et deviennent tout à fait lisses lorsqu'elles sont mûres. Ces conidies sont en général rondes, quelques-unes légèrement ovales, et mesurent en moyenne de 2 à 4 μ sur 2 à 3 μ ; quelques-unes assez rares sont beaucoup plus grandes 6 μ sur 4 μ . Elles sont réunies en files par un connectif visible au microscope (fig. 3). Le réactif de Melzer est sans action sur elles.

Sur gélose à 2 %, les pinceaux conidiens ont de 50 à 300 μ , en moyenne 100 μ . Sur Czapek, ils sont plus longs, 60 à 400 μ , et les files conidiennes ont d'avantage tendance à s'écarter les unes des autres. Sur gélose à 6 %, ils ont même longueur, mais les files conidiennes sont moins écartées. Quelques cristaux sont visibles au microscope dans les cultures en milieu sucré.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Ce *Penicillium* vert, à colonies épaisses et laineuses au centre, portant de manière précoce et fréquente d'abondantes repousses blanches floconneuses, se place dans le groupe des « *Lanata typica* » de Thom (1930), groupe comprenant en particulier un certain nombre d'espèces fromagères françaises.

Les caractères cultureux et microscopiques : couleur, lente liquéfaction de la gélatine, légère zonation sur Czapek, dimensions des divers éléments (nous n'avons cependant pas vu de conidiophores mesurant jusqu'à 1 millimètre de long,) spores légèrement rugueuses, puis lisses, répondent plus particulièrement aux caractères du *P. Lanosum* Westling 1911. Ce *Penicillium* d'après Thom (1930 p. 317) doit d'ailleurs plutôt être considéré comme le type d'une série

de *Penicillium* laineux, vert gris pendant la période de croissance, brunissant pendant le vieillissement, et possédant les dimensions du *Penicillium lanosum*.

Penicillium commune THOM 1910

Souche 31

CARACTÈRES CULTURAUX. — Se développe bien sur tous les milieux usuels.

Sur gélose glucosée à 2 ‰, en 2 jours à 26°, se développent de petits bouquets blancs, avec centre vert clair-0371 et revers orangé jaune 156. Ils passent rapidement au vert 367-397-338 et le revers au 151. Après 5 jours, les colonies sont bien développées, laineuses au centre (environ 1 millimètre de haut), veloutées sur les bords ; elles sont vert 343-363, bordées d'une anneau blanc de 1 millimètre de large, et portent des gouttelettes exsudées incolores. La teinte orangée très précoce du revers est déjà atténuée ; en haut elle n'est plus que jaune 216, avec bord verdâtre par transparence de la face ; vers le bas, elle est 182 mêlé d'orangé 136-156. Au bout d'une semaine, la face supérieure est 344 et le bord blanc tend à disparaître ; quelques colonies portent des sillons rayonnés. Après 15 jours, la face supérieure est toujours 344, avec un centre plus saillant, laineux, et un bord velouté. Quelques colonies portent des repousses blanches, floconneuses. Le revers est jaune 153 D-171-166, avec bord plus foncé 165 vers le bas. Puis la face supérieure passe au 350-200-144 vers 1 mois, et finalement au 115-100-95, avec revers 153 D-146.

Sur gélose glucosée à 6 ‰, les colonies sont plus épaisses, les teintes plus vives et plus persistantes. Au bout de 5 jours à 26°, les colonies sont vert 343, avec revers orangé 151, verdâtre au bord par transparence. Les colonies épaisses, laineuses surtout au centre, portent quelques gouttelettes de liquide exsudé incolore. Elles passent au 338 et, après 2 semaines, au 318-319, avec revers 157-127. Après 1 mois, elles sont vert 300, avec face inférieure 132-128. Quelques

colonies portent des repousses blanches floconneuses, mais peu développées.

Sur carotte, le développement est bon. Après 24 heures, on voit de petites colonies blanchâtres, de 1 à 2 millimètres de diamètre, passant au vert 342-343-338. Vers le 6^e jour, les colonies sont 319. Il se développe sur l'eau de carotte un voile de même teinte. Puis la teinte se fane et passe par les 200-144-140, pour devenir finalement marron 135. L'eau de carotte jaunit 161.

Sur milieu de Czapek, le développement est plus lent. Après 6 jours, les colonies sont veloutées, d'un beau vert 338, un peu plus foncées au centre, et bordées d'un anneau blanc, avec revers jaunâtre. Après 2 semaines, les colonies sont un peu saillantes, moins épaisses que sur gélose, mais présentent souvent une dépression centrale d'où partent quelques sillons rayonnés. Elles sont légèrement zonées, avec un centre vert 319 bordé d'un anneau jaune vert 189, puis d'un anneau plus foncé vert 315. Le revers est 103 D-128 D. Après 1 mois, les colonies sont marron verdâtre 165. Elles deviennent finalement 143, zonées clair et foncé, avec aspect poudreux.

Sur liquide de Raulin, après 2 jours, s'est développé un voile blanc, épais, floconneux, passant au 371-347-343 après une semaine. Après 2 semaines, il est toujours 343-344, avec revers légèrement rosé 103 A-071. Le liquide de Raulin est légèrement rosé, 103 B. Le voile porte quelques repousses blanches, cotonneuses. Après 2 mois, il est vert sale. Il devient finalement marron 143-144, avec revers mélangé de 122-096-0146. Le liquide de Raulin est peu coloré.

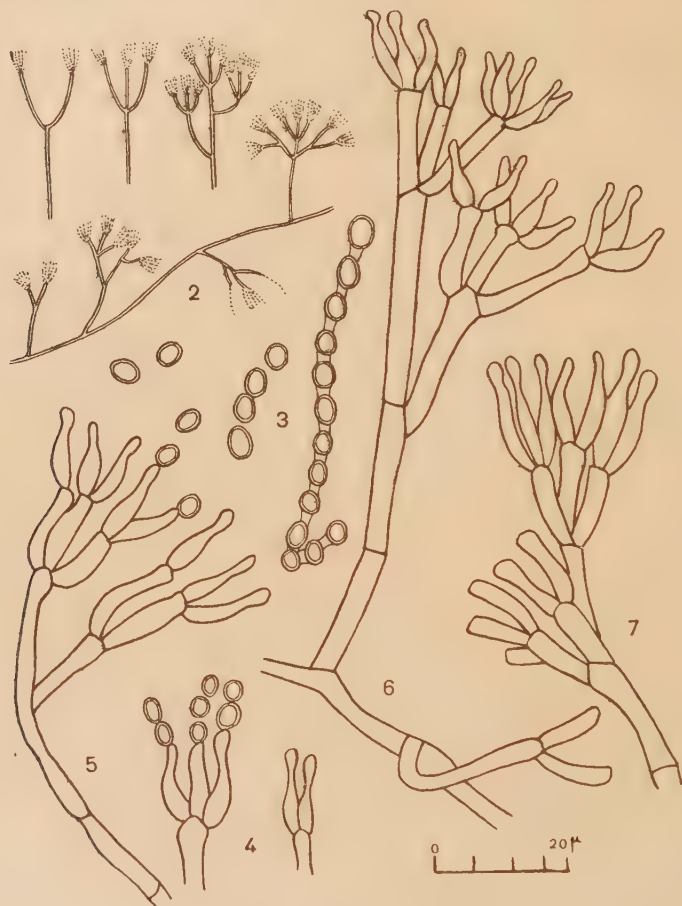
La liquéfaction de la *gélatine* est très lente. Après 45 jours, le milieu n'est liquéfié que sur 1/2 centimètre.

La *température* optima de développement est 22°-26°. Les colonies ne poussent pas à 37°.

Ce *Penicillium* a une *odeur* de moisi, plus ou moins sensible suivant les milieux.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — Les filaments mycéliens ont de 2 μ . à 3 μ ., 5 de diamètre. Les hyphes aériennes, de dimension assez variable, mesurent en moyenne 3 μ -3 μ ., 5 ;

certaines, plus larges, ont $4\ \mu$, 5 et même $8\ \mu$ sur gélose glucosée à $6\ \%$. Sur ce milieu, les filaments ont tendance à former des cordons rayonnant du centre vers le bord des colo-



P. commune Thom : 1, schéma des ramifications ; 2, aspect en culture sur lame ; 3, conidies mûres ; 4, phialides ; 5, 6, 7, divers modes de ramification des conidiophores.

nies. Ils sont en général lisses, certains sont légèrement rugueux, ou, tout au moins, à contenu granuleux. Les hyphes aériennes portent des conidiophores, généralement trapus, de hauteur variable, 40 à $70\ \mu$, parfois $100\ \mu$ et même $200\ \mu$, sur $3\ \mu$ à $4,5\ \mu$ de diamètre (fig. 6) ; quel-

ques-uns ont une paroi rugueuse. Ils se divisent en un nombre variable de ramifications secondaires de $10\ \mu$ à $30\ \mu$ sur $3\ \mu$ à $4\ \mu$ de large, portant à leur tour un verticille de 2 ou 3 métules le plus souvent, parfois 4 ou 5 (fig. 5-7) de $10\ \mu$ à $18\ \mu$ de longueur sur $3\ \mu$ à $3\ \mu$, 5 de diamètre, renflées au sommet jusqu'à 4 à $5\ \mu$. Chaque métule porte de 3 à 8 phialides allongées, de $9\ \mu$ à $14\ \mu$ sur $2\ \mu$, 5 à $3\ \mu$ (fig. 4). Les conidies sont subglobuleuses ou ovales, parfois lémoni-formes, à paroi épaisse et lisse, de dimensions assez variables (fig. 3) en moyenne $3\ \mu$, 5 sur $3\ \mu$. Certaines, plus grandes, ont $4\ \mu$, 5 à $6\ \mu$ sur $3\ \mu$, 5 à $4\ \mu$, 5. Dans les files conidiennes, les plus éloignées de la phialide sont les plus grosses. Elles sont unies entre elles par un connectif visible au microscope. Le réactif de Melzer est sans action. Sur gélose à 2 %, les pinceaux conidiens sont assez trapus, de 50 à 300 μ , et les files conidiennes demeurent en général accolées. Sur Czapek, les pinceaux sont un peu plus longs et plus fins, 60 μ à 350 μ , avec une légère tendance des files conidiennes à s'écarter les unes des autres. Sur gélose glucosée à 6 %, la longueur des pinceaux est sensiblement la même.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Comme la souche précédente, ce *Penicillium* est un laineux. Ses caractères cultureux et microscopiques : aspect des colonies, couleur rose du revers sur Czapek (le revers est jaune orangé sur les milieux sucrés acides), conidiophores rugueux ou lisses, conidies ovales de dimensions variables, dimensions des divers éléments, semblent en faire plus particulièrement un *Penicillium commune* Thom 1910 (p. 324-325, 1930).

Remarque. — Au cours de notre travail, nous avons remarqué que les cultures de *Penicillium* verts demeuraient beaucoup plus longtemps vertes sur les milieux très sucrés (gélose glucosée à 6 %). Sur gélose peptonée, non glucosée, la teinte verte n'apparaît même pas ; quoique les pinceaux conidiens se produisent, les colonies ont un mycélium blanc jaunâtre, avec des houppes centrales d'hyphes aériennes café au lait plus ou moins foncé. Thom, à propos du *Penicillium Chrysogenum* (Thom, p. 262, 1930) fait une remarque semblable sur la durée de la teinte verte, en rapport avec la

PENICILLIUM

Nom	P. citreo-sulfuratum 217-225	P. frequentans 911	C. ramosus 9112	P. luteum 148	P. lanosum 4113	P. Commune 31
Couleur des colonies	beige jaune	verte	beige rosé	verte	verte	verte
Exopigment	jaune	0	rose pâle. très faible	0	0	0
Liquéfaction de la gélatine	partielle	totale	partielle	très faible	très faible	très faible
Conidies	1-3 μ rondes lisses	1,5-3,5 μ rondes échinulées	1,5-3,5 μ rondes lisses	2-4 μ rondes lisses	2-4 μ /3 μ rondes ou sub-globuleuses, lisses	3,5 μ /3 μ ovales lisses
Files de conidies	30-450 μ	40-250 μ	15-100 μ	40-400 μ	50-300 μ	50-300 μ
Phialides	6-8 μ /1,5-2 μ	7-10 μ /1,5-2 μ	6-13 μ /1,5-3,5 μ	9-12 μ /2,5-3 μ	40-43 μ /2 μ	9-44 μ /2,5-3 μ
Conidiophores	12-70 μ /1,5-2,5 μ	30-400 μ /2,5-3 μ	25-470 μ /1,5-3 μ	50-350 μ /2-3,5 μ	50-200 μ /2-4 μ	40-200 μ /3-4,5 μ
Filaments mycéliens	1-2 μ	1-2,5 μ	1,5-2,5 μ	2,5-3,5 μ	2-3,5 μ	2-3,5 μ

richesse du milieu en sucre. Il nous semble que cette remarque présente un caractère plus général et peut s'étendre à un grand nombre d'espèces vertes.

Quant à la teinte du revers, chez les *Penicillium* verts, elle varie de l'orangé vif au rose en passant par le jaune pâle et semble influencée à la fois par la composition et la réaction du milieu. Sur Czapek, qui est neutre, elle est plus ou moins rosée. Cette teinte rose disparaît d'ailleurs par acidification. Elle est jaune plus ou moins orangé sur gélose glucosée acide, orangé plus vif et plus persistant si le milieu est plus sucré 6 %. Sur gélose peptonée non sucrée le jaune orangé n'apparaît pas.

CHAPITRE III

SCOPULARIOPSIS Bainier 1907

Bainier, en 1907, crée pour les espèces voisines du *Penicillium brevicaulis* Saccardo (*Penicillium anomatum* Corda, *Monilia Koningi* Oudemans) le genre nouveau des *Scopulariopsis*, dont l'utilité est confirmée par la suite. Ces champignons, surtout ceux à grosses spores, s'éloignent en effet du type classique des *Penicillium*, avec leur conidiophore court, parfois absent, leurs phialides de longueur très variable, leurs spores à base tronquée. Les *Scopulariopsis* à petites spores sont plus voisins des *Penicillium* vrais que les précédents. Ils en diffèrent cependant par leur conidiophore généralement court, parfois même absent. Sopp, en 1912, prenant aussi comme type le *Penicillium brevicaulis*, fonde le genre *Acaulium*. Biourge, en 1923, les range parmi les *Penicillium*, dans la section des *Anomaux*. A cause de son ancienneté, c'est le terme *Scopulariopsis* qui doit être adopté.

Les *Scopulariopsis* que nous avons étudiés, présentent un certain nombre de caractères communs. Leur développement est plus lent que celui des *Penicillium* vrais. Sur milieu solide, il se forme d'abord des colonies blanches, lisses, glabres, transparentes, d'aspect visqueux, résistantes, adhérant fortement au milieu et même s'y enfonçant. A ce stade, les colonies ont généralement la forme de calottes sphériques. Puis elles se recouvrent d'hyphes fructifères laineuses d'abord, veloutées ensuite, d'autant plus vite que le milieu est plus sec. Lors du développement du mycélium, les filaments sont le plus souvent vésiculeux. L'examen comparatif sur milieu de conservation de Sabouraud (absence de glucose), sur gélose glucosée à 2 %, et sur milieu d'épreuve

de Sabouraud (6 % de glucose) permet de noter les particularités suivantes : au bout de 24 heures, le mycélium développé sur les milieux glucosés à 2 et à 6 % est formé de filaments à paroi mince présentant en certains points des renflements vésiculaires. Ces renflements grossissent. Sur milieu à 2 %, les vésicules atteignent leur grosseur maxima au bout de 3 jours ; sur milieu à 6 %, elles atteignent leur plus grande taille vers le 5^e jour. Ensuite elles diminuent de taille peu à peu, mais les filaments gardent longtemps un aspect en chapelet. Dans l'ensemble les vésicules sont devenues plus grosses sur milieu à 6 % de glucose que sur milieu à 2 %. Certains filaments conidiens présentent aussi, au début de leur croissance, de petites vésicules. Sur milieu non sucré, le développement est plus lent ; ce n'est que vers le 6^e jour que l'on voit quelques filaments vésiculeux. Les vésicules sont d'ailleurs beaucoup plus petites et beaucoup moins nombreuses que sur les milieux précédents. Ce phénomène a été étudié par Langeron et Milochevitch (1930). Ils l'expliquent par l'épictèse, qui est, d'après le Professeur Lapique, la faculté qu'ont les végétaux de produire dans le suc vacuolaire de leurs cellules une pression osmotique supérieure à celle du milieu, contrairement aux lois de l'osmose (pl. hors texte, fig. 1).

Nous avons cultivé les 6 *Scopulariopsis* que nous avons étudiés sur gélose glucosée à 2 % contenant 1/10.000^e d'arséniate de soude. Au bout de 2 jours, quoique le développement soit encore très réduit, tous les tubes dégagent une nette odeur alliagée. D'après Bainier, en milieu hydrocarboné additionné d'une trace d'un composé arsenical, il se formerait de la diéthylarsine ; les groupements éthyliques seraient fournis par la fermentation alcoolique du composé hydrocarburé.

***Scopulariopsis brevicaulis* var. *glabra* THOM 1910**

Souche 1113 Bl.

Scopulariopsis à grosses spores.

CARACTÈRES CULTURAUX. — Bon développement sur les milieux usuels.

Gélose glucosée à 2 ‰ : on voit, après 48 heures à 26°, de petites masses blanches, visqueuses, à revers blanc 178 C sale. Au bout de 5 jours, les colonies sont encore blanches, d'aspect humide, visqueux ; elles sont épaisses, assez saillantes, en forme de calotte de sphère, en même temps qu'assez enfoncées dans la gélose. Seule la colonie développée en haut de la gélose, dans la partie la plus sèche, porte quelques hyphes aériennes dressées. Ces hyphes ont l'apparence de petits bouquets isolés, comme si elles allaient se corémier : puis au fur et à mesure du développement, elles recouvrent le mycélium visqueux d'une façon homogène, prenant un aspect laineux plus ou moins velouté sur le bord. Au bout de 8 jours, les colonies inférieures sont encore visqueuses avec quelques petits bouquets d'hyphes dressées, les autres d'aspect mi-velouté, mi-laineux, sont plus complètement recouvertes d'hyphes conidiennes blanc ivoire 128 A — 153 A, avec quelques gouttes de liquide exsudées, incolores ; le revers est 157 clair, la gélose a légèrement bruni. Après 2 semaines, les colonies sont blanc 128 B ; certaines portent au centre un bouquet un peu plus saillant, certaines présentent des sillons rayonnés, le revers est 162 clair -152. A partir de ce moment, l'aspect des colonies change très peu : elles deviennent de plus en plus poudreuses, la face supérieure jaunit un peu 128 C-0171-0146, la teinte du revers varie entre 161-162-157-152. Les colonies portent des repousses blanc neige, agglomérées en petites masses hémisphériques de 1 ou 2 millimètres de diamètre à 7 millimètres, assez nombreuses ; quelques-unes sont plus étendues et de forme irrégulière.

Gélose glucosée à 6 ‰. — Sur ce milieu le développement est plus riche : les colonies sont plus saillantes, plus sillonnées, cérébriformes. Elles demeurent longtemps glabres et lisses, parce que le développement mycélien est plus abondant. Peu à peu elles se couvrent d'appareils conidiens et prennent la teinte 128 B, veloutée, poudreuse des colonies du milieu précédent. Au bout d'un mois, elles sont très développées, mamelonnées, uniformément veloutées ; la couleur ne change guère 128B-128C-0171-0146 avec revers 161-157-152 ; l'aspect devient plus poudreux en vieillissant.

Sur gélose peptonée non glucosée, le développement est

pauvre, la sporulation précoce et maigre. Le mycélium visqueux est moins développé, peu épais. Au bout de 4 jours, les colonies du tiers supérieur du tube sont en partie recouvertes d'hyphes aériennes très longues. Ces hyphes, grêles et laineuses, se corèminent ; le thalle, lisse, portant les corémiums, demeure plus ou moins visible, tandis que, sur les milieux plus riches, il disparaît sous un feutrage continu de filaments fructifères ; la teinte est 0171-128 C sale. Le milieu brunit très rapidement par suite de l'attaque précoce de la peptone, alors que sur les milieux peptonés sucrés le brunissement est à peine sensible.

La carotte est un bon milieu ; après 24 heures à 26°, on voit quelques points blancs, visqueux, transparents. Après 5 jours les colonies, plus développées, ont déjà un aspect duveteux ; elles sont blanc 128 B, puis après 2 semaines veloutées, 128 A. En vieillissant, elles deviennent de plus en plus poudreuses 128 A-128 B ; elles portent des repousses blanches, et l'eau de carotte vire au jaune 166 pâle. Après deux mois de culture environ, un examen attentif montre de petites masses noires de la grosseur d'une tête d'épingle, quelques-unes en surface, la plupart enfoncées au milieu des hyphes et même dans le substratum, surtout abondants à la zone de contact de la carotte et de l'eau : ces éléments sont des sclérotés, ainsi que l'a révélé l'examen histologique.

Sur pomme de terre, le développement est le même que sur carotte ; tardivement il se forme aussi des sclérotés noirs.

Sur milieu de Czapek, le développement est moins riche. Après 6 jours, les colonies sont absolument blanc transparent, sauf à la partie supérieure du tube où quelques appareils fructifères sont déjà développés. Au bout de 2 semaines, les colonies sont plates, blanc de farine, veloutées. Après un mois et demi, elles sont beaucoup moins épaisses que sur gélose glucosée à 2 %, presque plates, poudreuses, du même blanc pur que les repousses ; le revers est teinté 203-203 B. Les repousses blanches sont compactes, saillantes, en petites masses hémisphériques. Ce milieu se prête aussi, après 2 ou 3 mois de culture, au développement de petites masses noires de la dimension d'une tête d'épingle,

enfoncées dans le mycélium, bien visibles par transparence ; comme ci-dessus, ce sont des sclérotés.

Sur liquide de Raulin, le développement n'a pas lieu.

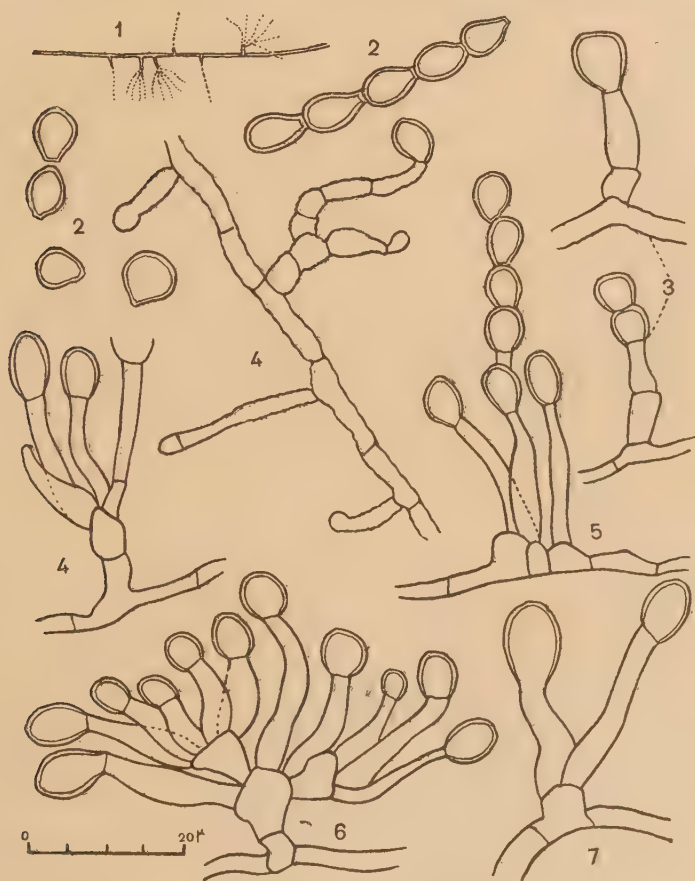
La liquéfaction de la gélatine est lente : 2 cm. 5 après un mois. Celle du sérum coagulé très faible au bout du même temps.

La température optima de développement est 26° ; le développement est moins riche mais a lieu à 37°.

L'odeur est très faible, légèrement ammoniacale sur gélatine, indéfinissable sur les autres milieux.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — Le thalle est formé de filaments mycéliens septés de 2 μ , 5 à 3 μ , 5, parfois 5 μ . Les hyphes aériennes ont le plus souvent de 2 μ , 5 à 4 μ , quelquefois plus ; certaines, en particulier les repousses blanches, sont formées d'éléments vésiculeux, courts, souvent très larges, jusqu'à 7 et 8 μ . Parfois les filaments s'enroulent en cordons ; de temps à autre, on voit les hyphes former de petits corémiums dressés, portant tout autour les appareils conidiens. Les conidiophores débutent par un renflement sur l'hyphe ; ce renflement s'accroît, s'isole par une cloison transversale et s'allonge en une phialide qui se différencie elle-même du conidiophore par une cloison transversale (fig. 3). Dans les cas les plus simples, la phialide s'insère directement sur l'hyphe, par suite de l'absence de cloisons transversales (fig. 5). Dans les parties abondamment sporulées, les appareils fructifères sont plus compliqués : le conidiophore n'est pas un simple renflement portant quelques phialides (fig. 4), mais forme un gros élément plus ou moins trapu de dimensions très variables, 4 à 10 μ sur 2 μ à 8 μ ; sur cet élément peuvent s'attacher directement un grand nombre de phialides. Souvent 1, 2, 3 autres articles de mêmes dimensions, 8 à 9 μ sur 3 à 6 μ , s'insèrent sur cet élément primaire, portant chacun un bouquet de phialides (fig. 6). L'ensemble de ces éléments peut être considéré comme un conidiophore cloisonné ou comme un conidiophore simple, avec une ou plusieurs métules. Les phialides sont groupées en nombre très variable : 1, 2 dans les parties jeunes ou pauvres, de 5 à 15 dans les parties riches, d'ailleurs difficiles à

dénombrer par suite de l'enchevêtrement des appareils fructifères voisins. Elles sont de dimensions variables, 8 à 10, 12 et même 20 μ sur 2 à 4 μ . Elles portent des conidies mesu-



S. brevicaulis var. *glabra* Thom : 1, schéma d'une hyphe fructifère ; 2, conidies mûres ; 3, détail d'une phialide ; 4, appareils fructifères à divers degrés de maturité ; 5, phialides directement insérées sur l'hyphe ; 6, détail d'un appareil fructifère avec conidiophore cloisonné ; 7, chlamydospore.

rant 5 à 9 μ sur 4 à 7 μ , en moyenne 7 μ , 5 sur 4 μ . Ces conidies sont ovales, piriformes, à base tronquée, à paroi épaisse et lisse (fig. 2). Le réactif de Melzer est sans action sur elles. Les files de conidies sont longues, ondulées ; elles

ont 20 μ . à 70 μ , 120 μ sur gélose ; sur milieu de Czapek elles sont plus longues 50 μ à 200 μ . Au lieu d'une file de conidies, certaines phialides portent une seule chlamydospore à paroi très épaisse, lisse, et à protoplasme granuleux, mesurant 9 à 10 μ , 5 sur 7 à 8 μ (fig. 7).

Nous avons étudié les sclérotés après fixation dans le liquide de Dubosq-Brasil, inclusion dans la paraffine, coupe et coloration au Mann. Le thalle, assez lâche dans l'ensemble, est plus dense en certains points, les filaments se pelotonnent. Ce peloton se transforme progressivement en une masse de cellules polyédriques dont la paroi externe se cutinise. Peu à peu, en mûrissant, les sclérotés grossissent, de sphériques ils deviennent plus irréguliers, allongés, réniformes, certains s'anastomosent. Ils sont alors constitués par un tissu polyédrique, homogène, prenant faiblement le colorant, entouré d'une paroi de 4 ou 5 assises de cellules cutinisées se colorant en brun. Les sclérotés sont généralement en amas de 5 à 10, à divers degrés de maturité et de diverses tailles : 50 à 800 μ .

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Ce *Scopulariopsis blanc*, à grosses spores lisses, produisant tardivement sur carotte, pomme de terre, et milieu de Czapek, des sclérotés plus ou moins enfoncés dans le substratum, présente l'ensemble des caractères culturels et microscopiques du *Scopulariopsis brevicaulis* variété *glabra* Thom 1910. Il en diffère cependant par les deux caractères suivants : liquéfaction assez lente de la gélatine, bon développement sur milieux gélosés ; tandis que la souche de Thom pousse pauvrement sur ces mêmes milieux et liquéfie la gélatine en moins d'une semaine. Malgré ces deux différences, nous pensons qu'on peut assimiler notre souche à un *Scopulariopsis brevicaulis* var. *glabra*. Thom 1910.

Acaulium nigrum Sopp 1912

Souche 9090

Scopulariopsis à grosses spores

CARACTÈRES CULTURAUX. — Bon développement sur les milieux usuels.

Sur gélose glucosée à 2 %, après 24 heures à l'étuve, on voit de petites masses de mycélium blanc, d'aspect visqueux. Les colonies d'abord lisses, humides, se recouvrent peu à peu d'hyphes conidiennes, d'autant plus vite que le milieu est plus sec ; ce phénomène se produit du centre des colonies vers la périphérie. En même temps, la teinte fonce progressivement. Au bout de 3 jours, les colonies sont assez saillantes, lisses, toujours d'aspect visqueux ; certaines présentent des sillons cérébriformes ; d'autres ont la forme de calotte sphérique. Au centre de la plus haute colonie, quelques hyphes aériennes prennent une teinte entre 97-117 clair. Après une semaine, les colonies inférieures sont encore lisses. Les autres sont en partie recouvertes par des hyphes violacées, 98-73-569 ; le revers en est 98 clair ; la gélose au niveau des colonies colorées commence à se teinter de rosé 78 B. Cette souche est moins laineuse que la précédente. Vers le 12^e jour, les colonies supérieures deviennent veloutées, rouge marron 94-90, avec bord rosé, revers 118 et gélose 122-97 clair. Celles du milieu sont encore 122 (hyphes conidiennes moins développées). Celles du bas sont blanches, visqueuses, non pigmentées. Les jours suivants, en haut du tube, la teinte passe au 115, et l'on peut voir quelques gouttelettes exsudées de liquide incolore ; revers 89. Dans le bas du tube, les hyphes conidiennes font leur apparition ; couleur 103 A. Après un mois, toutes les colonies sont devenues veloutées, de couleur 115, avec revers 89-90 et gélose 68 sale. L'aspect change peu en vieillissant : les colonies deviennent plus poudreuses et un peu plus claires 110-114, revers 115. Vers la fin de la 2^e semaine apparaissent des repousses blanches, compactes, hémisphériques.

Gélose glucosée à 6 % : Le développement est riche, les

colonies sont saillantes, cérébriformes. Elles demeurent longtemps blanches, glabres, puis peu à peu se couvrent d'hyphes fructifères, les colonies les plus sèches les premières. Les colonies recouvertes d'hyphes sont épaisses, veloutées, puis poudreuses. La teinte passe progressivement du 103 A au 122, 97, 98, 73, 769, puis au rouge marron 94-90, puis au 115-109, et le revers au 115.

Sur gélose peptonée non glucosée, le développement est pauvre et la sporulation précoce et maigre. Le mycélium visqueux se couvre en partie d'hyphes qui se corémient : corémiums courts de 0 mm. 5, disposés sensiblement en cercles concentriques autour d'un bouquet central. Le thalle lisse, qui supporte les hyphes, demeure visible entre les corémiums au lieu d'être uniformément recouvert par un tapis velouté comme sur les milieux plus riches : la teinte est 147-143 clair. Le milieu brunit précocement par suite de l'attaque de la peptone et devient marron 113-114.

Sur carotte, après 24 heures, on voit seulement quelques points blancs, humides, transparents. Puis les colonies se développent et prennent un aspect duveteux : au bout de 6 jours elles sont 122-98. En vieillissant, elles deviennent veloutées, puis poudreuses. Sur l'eau de carotte se développe un voile de même teinte, avec revers blanc rosé 122. Les colonies passent par le 94-95 pour rester finalement au 115-110 ; l'eau de carotte jaunit 152 clair. Sur ce milieu, nous n'avons obtenu ni périthèces, ni sclérotés.

La pomme de terre est un bon milieu et le développement y est rapide. Après 5 jours, la culture est veloutée, violet rouge 94-25 ; la pomme de terre est colorée par un exopigment en violet rosé 553 B. La culture porte de nombreuses gouttes exsudées, brun rouge. Au bout de 10 jours, la couleur est devenue 99-94 et la pomme de terre est plus fortement pigmentée en violet rouge, 24 en haut, 23 pâle en bas. Après 2 semaines, la teinte passe au brun rouge 65, avec des repousses hémisphériques compactes blanches et de nombreuses gouttes exsudées noires : pomme de terre 94. Au bout d'un mois, la culture devient 65-70, poudreuse, la pomme de terre 69 et l'eau rosé 103 D, teintes que gardent les vieilles cultures. Ni sclérotés, ni périthèces sur ce milieu.

Sur milieu de Czapek, le développement est lent. Après 6 jours, les colonies sont saillantes, blanches, lisses, glabres. Seule en haut du tube une colonie a son centre blanc, saillant, et sa périphérie légèrement teintée de beige rosé 122 clair. Le Czapek rosit légèrement 53 A-553 B. Au bout de 2 semaines, les colonies sont veloutées, 93-73, avec revers 117-118 et Czapek 103 C-53 B ; celles du bas laissent encore voir une partie de leur mycélium glabre et non coloré. La teinte passe au 94, avec Czapek 97-122 sale, après un mois ; puis finalement au 110-115, avec revers 118-133 et Czapek 98 et 118 sale. Les jeunes colonies sont saillantes ; par la suite le centre de certaines s'affaisse et elles prennent un aspect cratériforme ; parfois même le fond de la dépression se déchire. Les vieilles colonies sont poudreuses. Il se développe quelques repousses blanches hémisphériques. Uniquement sur ce milieu et tardivement, dans des cultures de 2 à 3 mois, nous avons vu des sclérotés, petites masses noir verdâtre, les uns isolés de la dimension d'une tête d'épingle, les autres en amas d'un demi centimètre de diamètre environ, adhérents au milieu, dont le nombre s'est accru pendant le vieillissement.

Au début des cultures, l'exopigment était plus abondant et la couleur des colonies plus foncée. L'intensité de la coloration s'est atténuée au cours des nombreux repiquages.

Sur liquide de Raulin, le développement n'a pas lieu.

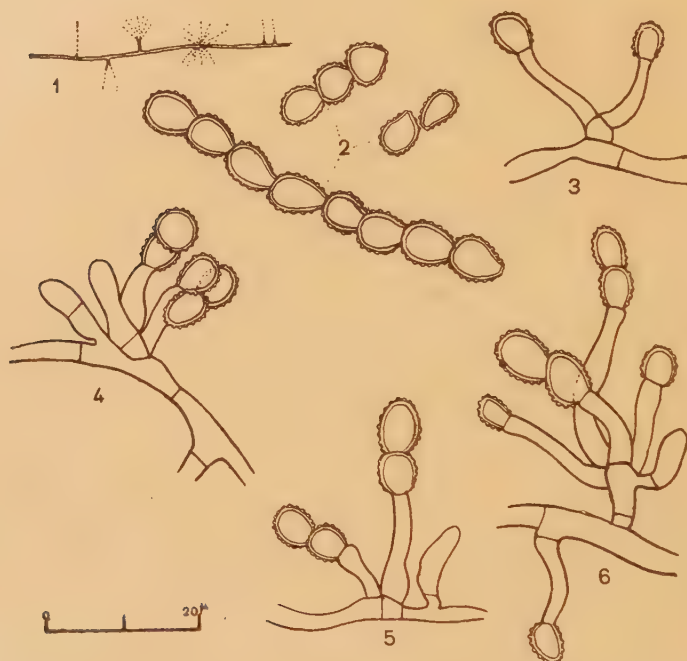
La gélatine est lentement liquéfiée, 2 cm. après 1 mois 1/2, et le *sérum coagulé* partiellement liquéfié au bout du même temps.

L'odeur est presque nulle.

La température optima de développement est 22°-26°. Celui-ci n'a pas lieu à 37°.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — La thalle est constitué par des filaments mycéliens septés de 2 à 3 μ , 5 de diamètre. Les hyphes portant les appareils fructifères sont de mêmes dimensions. Quelques filaments sont formés d'articles courts, vésiculeux, beaucoup plus larges, jusqu'à 6-7 μ . Les filaments ont tendance à s'enrouler en cordons. Les hyphes aériennes forment parfois de petits corémiums visibles au microscope

et portant tout autour les appareils conidiens enchevêtrés. Les conidiophores débutent par un simple renflement sur l'hyphe ; ce renflement s'isole généralement par une cloison transversale et s'allonge en une phialide. Celle-ci s'individualise à son tour par une cloison (fig. 3 et 4). Ces cloisons



A. nigrum Sopp : 1, schéma d'une hyphe fructifère ; 2, files de conidies mûres échinulées ; 3, 4, appareils conidiens à divers degrés de développement ; 4, 5, phialides directement insérées sur l'hyphe ; 6, appareil conidien avec conidiophore cloisonné.

manquent parfois, surtout dans les parties jeunes, et les phialides semblent s'insérer directement sur l'hyphe. Les conidiophores, souvent plus complexes, sont constitués non par un seul article, mais par un groupe d'articles diversement superposés, portant de 5 à 15 phialides (fig. 6). Les formes et les dimensions des conidiophores sont donc extrêmement variables, 3-7 ou 10 μ sur 2 à 5 μ . Les phialides sont allongées et mesurent 10 μ -15 μ -18 μ et même 35 μ sur

2 μ , 5 à 3 μ , 5 de diamètre, en moyenne 15 μ sur 3 μ . Elles portent des conidies de 5 μ à 7 μ , 5 sur 4 μ , 5 à 6 μ ; conidies ovales, à base tronquée, larges, à paroi épaisse échinulée, donnant à certaines un aspect presque polygonal (fig. 2). Le réactif de Melzer est sans action sur elles. Les files de conidies sont longues, de 50 à 150 μ sur gélose ; de 70 à 175 μ environ sur Czapek. Certaines phialides ne portent pas de files conidiennes, mais une seule chlamydospore à paroi épaisse, à contenu granuleux de 9 à 10 μ sur 6 μ .

Comme nous l'avons déjà signalé, il se développe tardivement sur Czapek de petits sclérotés brun verdâtre. L'étude de ces éléments a été faite après fixation dans le liquide de Dubosq-Brasil, inclusion dans la paraffine, coupe et coloration au Mann. Dans un tissu assez lâche, on voit les filaments, denses par endroits, se pelotonner. Le peloton ainsi formé se transforme ensuite en une masse de cellules polyédriques de 50 à 100 μ . En même temps, la paroi externe se cutinise et la teinte bleu pâle des filaments passe au violet, puis au brun. En mûrissant, les sclérotés grossissent, leur forme devient irrégulière, allongée, réniforme ; nés les uns à côté des autres, ils s'anastomosent. Ils sont généralement par groupes de 5 à 10, à divers degrés de maturité, de taille très variable, 50 à 800 μ (pl. hors-texte, fig. 2). Ils sont constitués par un tissu de cellules polyédriques homogènes, se colorant peu par le Mann, et entourés d'une paroi formée de 6 ou 7 assises de cellules très fortement cutinisées, qui se teignent en brun par le même colorant.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Ce *Scopulariopsis* à grosses conidies brunes échinulées, de teinte violet brun puis marron, qui donne un pigment exogène violacé, qui se développe très bien sur pomme de terre en exsudant un liquide noir et en colorant la pomme de terre en violet très foncé, qui produit tardivement sur certains milieux de petits éléments noir olivâtre, nous paraît très voisin d'une espèce décrite par Sopp (1912) sous le nom d'*Acaulium nigrum*. Ce *Scopulariopsis* rencontré par Sopp sur des larves d'insectes n'a pas été retrouvé par d'autres auteurs.

L'*Acaulium nigrum* présente quelques différences avec

la souche que nous avons étudiée. Il liquéfie la gélatine en la colorant en bleu noir ; notre souche la liquéfie lentement sans coloration. Au cours des repiquages, Sopp prétend que les conidies peuvent devenir lisses ; les nôtres sont toujours restées échinulées. Dans nos cultures, nous n'avons jamais rencontré d'énormes sclérotés cartilagineux de 3 à 5 millimètres d'épaisseur sur 10 à 20 millimètres de diamètre, ni d'autres sclérotés blancs ; à moins que ces derniers ne soient pas autre chose que les repousses blanches hémisphériques et compactes. Les petites masses noir olivâtre se développant tardivement sur Czapek ressemblent aux perithèces décrits par Sopp. Cependant, quoique nous les ayons laissées mûrir plus de 3 mois, les nombreuses coupes que nous avons examinées nous ont toujours montré la même anatomie : une enveloppe plus ou moins cutinisée contenant à l'intérieur un parenchyme polygonal homogène tout-à-fait semblable aux fig. 90 et 91 de Sopp. Jamais nous n'avons vu de filaments ascogènes, d'asques, d'ascospores. Nous n'avons pas non plus observé de conidiophores aussi hauts, aussi grêles et aussi ramifiés que celui représenté par Sopp fig. 86 a.

En dépit de ces divergences, la souche que nous avons étudiée nous paraît présenter suffisamment de caractères communs avec l'*Acaulium nigrum* pour que la création d'une espèce nouvelle soit jugée inopportune.

Acaulium nigrum variété *glabrum* NOV. VAR.

Souche 242

Scopulariopsis à grosses spores

CARACTÈRES CULTURAUX. — Bon développement sur les milieux usuels.

Sur gélose glucosée à 2 %, au bout de 48 heures, on voit de petites colonies blanches, glabres, transparentes, à revers blanc. Au bout de 5 jours, les colonies assez saillantes, glabres d'aspect visqueux, en forme de petites calottes sphériques, lisses ou cérébriformes, commencent à se couvrir d'hyphes aériennes de teinte 97-98. La transformation des colonies

glabres en colonies veloutées se fait exactement comme dans la souche 9090. Après une semaine, les colonies supérieures sont violacé 94 ; elles commencent à se velouter. Celles du dessous sont plus pâles, 122, avec des parties plus claires ; le revers est 64. Les colonies inférieures sont encore complètement lisses et blanches. La gélose au niveau des colonies les plus colorées se teinte de 78 B. Les appareils fructifères se développent peu à peu, d'abord en haut, puis en bas, et les colonies sont à peu près complètement brun velouté au bout de 3 semaines, avec quelques gouttes exsudées incolores. La teinte passe progressivement au 98-73-94-90, avec revers 95 et gélose 68 clair, puis au 115 avec revers 89-90 ; finalement, en vieillissant, elle s'éclaircit un peu, marron 110-114. Les vieilles colonies sont plus poudreuses.

Sur gélose glucosée à 6 %, les colonies deviennent épaisses, oérébriformes. D'abord blanches, lisses, glabres, elles se couvrent peu à peu d'hyphes fructifères leur donnant l'aspect velouté et finalement poudreux. Au fur et à mesure du développement des hyphes, les couleurs passent progressivement du blanc au rosé 122-97-98-73, puis au marron 94-90-115, et finalement au marron plus clair 109-108 avec revers 115. Le développement est bon sur ce milieu.

Gélose peptonée non sucrée. — Le développement est pauvre, la sporulation précoce, peu abondante. Comme pour la souche 9090, le mycélium glabre se recouvre d'hyphes fructifères se corémiant. Les corémiums sont disposés sensiblement en cercles concentriques. Ils laissent visible entre eux le thalle glabre ; la teinte est mélangée de 147-143. Le milieu brunit précocement 114-113, par suite de l'attaque de la peptone.

La carotte est un bon milieu de culture. Après 2 jours, un examen minutieux montre la présence de quelques petits points blancs, transparents. Au bout de 6 jours, la culture est duveteuse, châtain 93-98. Au fur et à mesure de la maturation, elle devient veloutée et passe au 94-90. Il se développe sur l'eau un voile de même teinte. Une culture de 2 mois est marron 110-115, poudreuse ; l'eau de carotte est beige rosé 128 D.

La pomme de terre est un milieu très favorable ; le déve-

loppement y est relativement rapide. Après 3 jours, la culture est duveteuse, rosée 93-122 ; la pomme de terre est 103 C. La teinte fonce ensuite rapidement, passe au violet rouge 94 -25 ; en même temps la culture prend un aspect velouté. La pomme de terre devient 553 B. Au bout de 10 jours, les colonies sont 99-94, et la pomme de terre violet rouge 24 en haut, plus pâle en bas. La culture porte de très nombreuses gouttes exsudées noires et des repousses blanches compactes, hémisphériques. Après 2 semaines, la culture est devenue marron violet 63 et la pomme de terre 94. En vieillissant, l'aspect devient poudreux et la teinte reste définitivement 65-670 avec pomme de terre 69 et eau rosée 103 D. Cette culture ressemble tout à fait à celle du 9090 sur le même milieu.

Sur milieu de Czapek, le développement est lent. Au bout de 6 jours, les colonies sont saillantes, blanches, glabres, d'aspect visqueux. La colonie la plus haute (dans la région la plus sèche) porte déjà quelques hyphes beige rosé 122 clair, mais le centre et le bord sont encore blancs, visqueux. Après 2 semaines, les colonies sont veloutées, colorées en 93-73, certaines parties plus claires, d'autres plus foncées ; le Czapek est coloré en rose violet 97-122. Les colonies inférieures sont encore en partie glabres et blanches. La culture est moins épaisse que sur gélose. D'abord saillantes, certaines colonies s'aplatissent ou se mamelonnent ; d'autres s'affaissent au centre, prenant un aspect cratériforme : parfois le fond de la dépression centrale se déchire. La teinte passe au 94, puis au 110-115, avec Czapek 98-118-113 sale. Les colonies deviennent poudreuses en vieillissant. Elles portent des repousses blanches hémisphériques. Comme pour la souche précédente, uniquement sur Czapek, nous avons vu se former tardivement vers 2 mois, de petites masses noir olivâtre, adhérentes au milieu, de dimensions variant d'une tête d'épingle à un 1/2 centimètre de diamètre, dont le nombre augmente pendant le vieillissement. Là encore il s'agit de sclérotés.

La pigmentation, vive dans les premières cultures, s'est atténuée au cours des repiquages.

Sur liquide de Raulin, le développement n'a pas lieu.

La gélatine est totalement liquéfiée sans coloration au bout d'un mois.

Le sérum coagulé est partiellement liquéfié au bout du même temps.

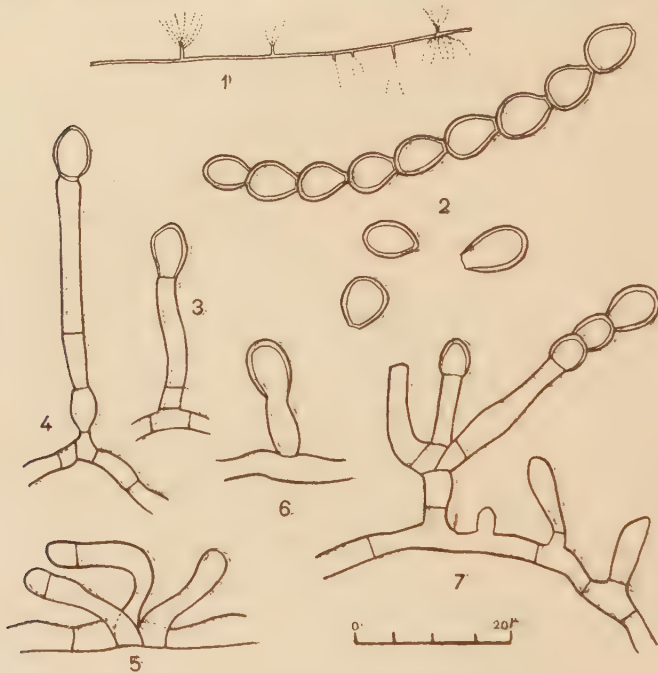
L'odeur est presque nulle.

La température optima de développement est 22°-26°. Celui-ci n'a pas lieu à 37°.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — Le thalle, assez lâche, est formé de filaments mycéliens de 2 μ à 4 μ de diamètre ; les hyphes aériennes ont mêmes dimensions. Ces éléments sont lisses et très cloisonnés. Quelques-uns, en particulier les repousses blanches, sont formés d'articles courts, vésiculeux, beaucoup plus larges. Les hyphes ont tendance à former des cordons partant du centre vers la périphérie. Les hyphes fructifères forment quelques petits corémiums dressés, visibles au microscope, et portant tout autour les appareils conidiens. Ceux-ci sont constitués par un conidiophore sur lequel s'insère une ou plusieurs phialides. Le degré de complexité de ces appareils est très variable avec l'âge et la richesse du milieu de culture. Les conidiophores débudent par un simple renflement sur l'hyphe, renflement qui s'isole généralement par une cloison transversale et s'allonge en une phialide (fig. 7). La phialide s'individualise à son tour par une cloison (fig. 3). Les cloisons peuvent manquer, surtout dans les parties jeunes ; les phialides s'insèrent alors directement sur l'hyphe (fig. 4). Les conidiophores sont très variables, réduits parfois à un petit élément de 3 μ sur 2 μ , 5, ailleurs formés par un groupe d'éléments diversement articulés et superposés, pouvant mesurer 4 à 10-12 μ sur 2 μ , 5 à 7 μ (fig. 4 et 7). Les phialides sont à paroi mince ; leur longueur varie de 7 μ à 25 μ sur 2 μ , 5 à 3 μ , 5 de diamètre, en moyenne 14 μ sur 3 μ (fig. 4-5-7). Elles sont soit isolées, soit en bouquets de 3 à 15, difficiles à dénombrer par suite de l'enchevêtrement des phialides portées par les conidiophores voisins. Elles portent des conidies ovales, ventruës, à base tronquée large, à paroi épaisse et lisse, mesurant 4 à 8 μ sur 4 à 6 μ (fig. 2). Le réactif de Melzer est sans action sur elles. Les files de conidies sur gélose ont

de 70 à 150 μ ; sur milieu de Czapek, elles sont un peu plus longues. Certaines phialides ne portent pas de files conidiennes, mais une seule chlamydospore plus grosse, de 9 à 10 μ sur 6 à 7 μ , à paroi très épaisse.

L'étude des sclérotes a été faite de la même façon que pour la souche précédente et les résultats sont comparables. En



A. nigrum var. *glabrum* nov. var : 1, schéma d'une hyphe fructifère ; 2, conidies mûres ; 3, 4, phialides ; 5, phialides jeunes s'insérant directement sur l'hyphe ; 6, chlamydospore ; 7, appareil conidien avec conidiophore cloisonné.

quelques points du thalle lâche il y a condensation des filaments et formation d'un peloton. Ce peloton se transforme en une masse de cellules polyédriques, grossit, sa paroi se cutinise. En grossissant, les sclérotes s'anastomosent. A maturité, ils ont une paroi formée de 6 ou 7 assises de cellules fortement cutinisées entourant un tissu homogène de cellules polyédriques peu colorées. Ils sont groupés par dizaines environ, d'âge et de taille variables : 50 à 800 μ . Nous avons

laissé ces éléments mûrir 3 mois. Au bout de ce temps, la structure était celle des premiers éléments étudiés. Par conséquent nous n'avons pas eu affaire à des périthèces non arrivés à maturité, mais uniquement à des sclérotés.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Cette souche nous semble très voisine de la précédente. Elle possède les mêmes caractères cultureux : même mode de développement, même pigment violacé, sclérotés d'aspect semblable se développant uniquement sur milieu de Czapek. Une différence : elle est douée d'une plus grande activité protéolytique et liquéfie plus rapidement la gélatine. Au point de vue morphologique, ses éléments ont mêmes dimensions. Ses hyphes aériennes se corémient quelquefois, comme dans la souche précédente. Elle donne des chlamydospores. La différence essentielle est que cette souche donne uniquement des conidies à paroi lisse. Et jamais, au cours de nos cultures, nous n'avons observé la transformation des conidies lisses en conidies échinées ou la transformation inverse. Il apparaît donc normal que nous fassions de ce champignon un *Acaulium nigrum*, variété *glabrum*.

ACAULIUM NIGRUM VAR. GLABRUM

Conidiis 4 μ -8 μ / 4 μ -6 μ , *ovatis*, *laevibus*, *basi truncata* ; *phialidis* 7 μ -25 μ / 2 μ , 5-3 μ , 5, *singulis*, *binis*, *quinis vel quinis densis* ; *conidiophoris loculis vel non*, 3 μ -12 μ / 2 μ , 5-7 μ ; *filamentis laevibus* 2 μ -4 μ ; *colore primo roseo pallido, deinde violaceo, tandem badio*.

Acaulium nigrum variété *glabrum* NOV. VAR.

Souche 243

Scopulariopsis à grosses spores

CARACTÈRES CULTURAUX. — Bon développement sur les milieux usuels.

Sur gélose glucosée à 2 %, les caractères sont les mêmes

que ceux de la souche précédente. Les colonies sont d'abord blanches, glabres, passent successivement par les teintes rouge violacé 97, 122, 94, 90, et finalement marron 110-114, avec revers 64, 90, 95, 115. Parallèlement, elles deviennent veloutées, puis poudreuses. La gélose rosit, d'abord 78 B, ensuite 68 clair.

Sur gélose glucosée à 6 ‰, les colonies sont épaisses, cérébriformes, comme celles de la souche 242. Elles passent du blanc au rose 122, 97, 73 puis au marron 94, 90, 115, enfin au 109-108 avec revers 115.

Sur gélose peptonée non sucrée, développement pauvre. Les hyphes aériennes forment des corémiums concentriques. La teinte est mélangée de 147-143.

Sur carotte, le développement est bon. Les colonies, d'abord blanches, glabres, deviennent successivement duveteuses, veloutées et finalement poudreuses. Leur teinte passe par le 93, 94, 90, 110, 115. Il se développe sur l'eau un voile devenant aussi marron 110-115. L'eau se colore en beige rosé 128 D.

La pomme de terre est très favorable. Les caractéristiques sont les mêmes que celles de la souche 242. Les colonies se veloutent, prennent les teintes 122, 94, 99 puis marron 69, 65, 70. Elles portent de nombreuses repousses blanches, compactes, et des gouttes de liquide noir exsudé. La pomme de terre passe du rose 103 C au violet marron 64, 69.

Sur milieu de Czapek, le développement est lent, plus maigre que sur gélose. Les colonies se teintent de 122, 93, 73, 94, 110, 115 en devenant veloutées et cratériformes. Le Czapek se colore en 97, 98, 118, 113. Les colonies portent quelques repousses blanches. Il se développe tardivement, entre le 2^e et le 3^e mois, des sclérotas noir olivâtre.

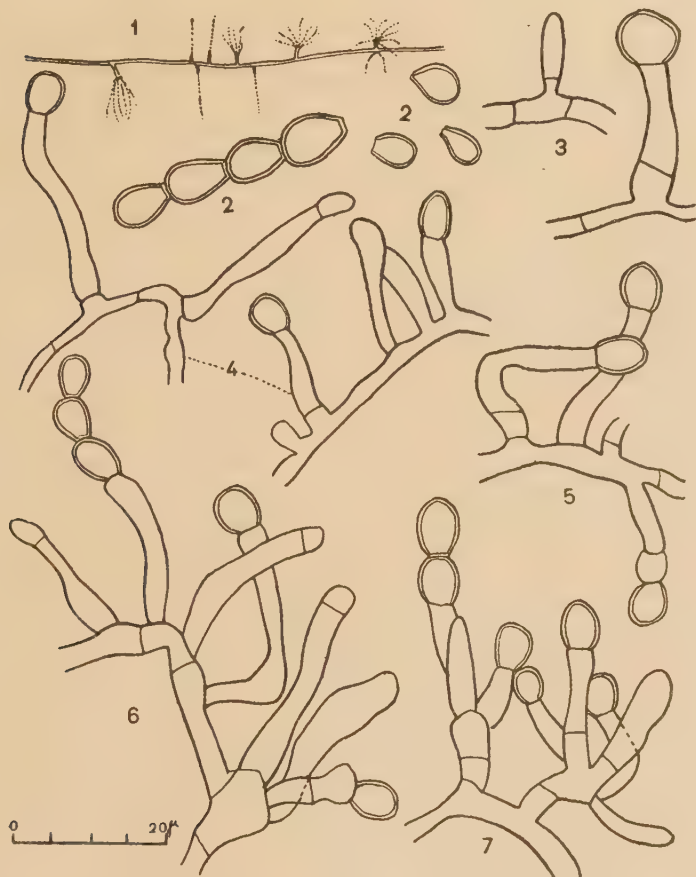
Sur liquide de Raulin, le développement n'a pas lieu.

La gélatine est totalement liquéfiée en un mois et le sérum coagulé l'est partiellement.

L'optimum cultural est 22-26°. Le développement n'a pas lieu à 37°.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — Les filaments mycéliens et les hyphes ont de 2 μ à 4 μ de diamètre. Ces éléments

sont lisses et très cloisonnés. Quelques-uns sont formés d'articles vésiculeux courts, beaucoup plus larges. Les hyphes ont tendance à s'enrouler en cordons. Elles forment



A. nigrum var. *glabrum* nov. var : 1, schéma d'une hyphe fructifère ; 2, conidies mûres ; 3, 4, conidiophores et phialides à divers degrés de développement ; 5, détail d'une phialide ; 6, phialides directement insérées sur l'hyphe ; 7, appareils fructifères avec conidiophores cloisonnés.

parfois de petits corémiums dressés, portant les appareils conidiens. Les conidiophores varient du simple renflement sur l'hyphe (fig. 4) à l'appareil plus ou moins complexe formé de plusieurs éléments diversement articulés (fig. 7). Ils

mesurent de 3 à 10 μ sur 2 μ , 5 à 7 μ . Les phialides à paroi mince, sont un peu plus longues que dans la souche 242, elles ont de 10 à 35 μ sur 2,5 à 3 μ , 5, en moyenne 15 à 20 μ sur 3 μ (fig. 4). Elles s'insèrent soit isolément sur l'hyphe, soit par groupes de 1 à 12 sur un conidiophore (fig. 6 et 7). Les comidies ovales, ventrues, à base tronquée, à paroi épaisse, lisse, ont de 4 μ , 5 à 9 μ sur 4 μ à 6 μ (fig. 2). Les files conidiennes mesurent de 70 à 150 μ sur gélose et sont un peu plus longues sur Czapek 70 à 175 μ . Les chlamydospores ont de 9 à 10 μ sur 6 à 7 μ .

Les éléments noir olivâtre, étudiés de la même façon que pour la souche 242, sont aussi des sclérotés. L'évolution en est la même. Un peloton de filaments se transforme en une masse de parenchyme homogène, à paroi fortement cutinisée.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Les caractères cultureux et microscopiques de cette souche étant très sensiblement les mêmes que ceux de la souche précédente, nous en avons fait également un *Acaulium nigrum*, variété *glabrum*.

Scopulariopsis Brumptii NOV. SP.

Souche 942

Scopulariopsis à petites spores

CARACTÈRES CULTURAUX. — Il se développe bien sur les milieux usuels.

Gélose glucosée à 2 % : après 48 heures, on voit de petites colonies blanches, lisses, d'aspect visqueux, adhérant fortement au substratum. Les colonies supérieures portent déjà un bouquet central duveteux, grisâtre, et leur revers est gris verdâtre. Au bout d'une semaine, les colonies du bas du tube sont toujours blanches, glabres ; celles du haut portent des hyphes laineuses en bouquets, de teinte vert noir plus foncée que 225 mélangée de gris 222 sale. Ces hyphes ne recouvrent pas entièrement le mycélium humide et lisse

qui se colore en noir verdâtre par le pigment des appareils fructifères. Vers le 15^e jour, les colonies supérieures sont noir verdâtre, veloutées, avec un bouquet central d'hyphes plus saillant ; le revers est plus foncé que 225. Le pigment ne diffuse pas dans la gélose, il ne la colore que légèrement sur le bord des colonies. Les colonies médianes sont en partie glabres, en partie couvertes d'hyphes laineuses, gris noirâtre. Celles du bas sont encore complètement glabres. Après un mois les colonies sont devenues marron noir plus foncé que 120, veloutées ; le revers est noir à la périphérie, plus clair au centre, environ 145-168. A maturité, les colonies sont saillantes. Leur centre, en plateau, est velouté laineux ; sous la couche d'hyphes, le thalle mycélien, assez enfoncé dans la gélose, est très résistant. Le bord, très plat, est velouté ras. Le vieillissement fait prendre aux cultures un aspect poudreux et une couleur marron noir plus claire ; après 4 mois, elles sont 65-70-95, avec revers plus foncé. Elles portent rarement des repousses blanches ; celles-ci, très peu développées, sont laineuses ; elles ne prennent jamais l'aspect de petites masses hémisphériques, fréquentes chez les espèces précédentes.

Gélose glucosée à 6 % : développement plus riche, colonies saillantes, serrées, cérébriformes ; elles demeurent longtemps glabres, d'aspect visqueux. Elles se couvrent progressivement d'hyphes, en passant par les mêmes stades que sur milieu à 2 % de glucose. Les hyphes sont d'abord laineuses, gris verdâtre, gris noirâtre 225 foncé-222 sale. Par la suite, les colonies se veloutent et passent au noir verdâtre, le revers ayant sensiblement la même teinte 225 foncé. Au bout d'un mois, elles sont toutes veloutées, quelques-unes portent des bouquets d'hyphes centraux un peu plus saillants. En vieillissant, la teinte tourne au noir marron 70 et l'aspect devient plus poudreux.

Gélose peptonée non glucosée : développement pauvre, sporulation maigre et précoce. A maturité, le thalle mycélien, peu saillant, est très incomplètement recouvert d'hyphes. Les colonies sont presque glabres ; elles portent au centre et à la périphérie quelques hyphes fructifères courtes et rases ne se corémiant pas. La teinte est marron 118 sale ;

le centre et le bord sont un peu plus foncés. La gélose est devenue précocement marron 113-114.

Sur carotte, le développement est plus rapide que sur les milieux précédents. Après 24 heures, on voit quelques petits points blancs, visqueux, transparents. Au bout de 5 jours, la culture est duveteuse, gris verdâtre plus ou moins foncé mélangé de 222 et 225, puis elle devient peu à peu veloutée. Après 15 jours, elle est gris noir, entre les teintes 4 et 5 du code de Saccardo. Sur l'eau de carotte se développe un voile de même nuance, dont le revers est blanc grisâtre ; l'eau ne se colore pas du tout. Au bout d'un mois et demi, la culture est encore noire, mais vire au marron. Les vieilles cultures de 3 mois sont marron 65-70 et poudreuses. L'eau de carotte a légèrement jauni, 153 D. Il n'y a pas de repousses blanches.

Sur pomme de terre, bon développement. Après 48 heures, on voit quelques petites colonies blanches, glabres. Quelques-unes portent au centre de petites houppes blanches. Après une semaine, le mycélium végétatif est recouvert d'hyphes duveteuses assez courtes ; leur teinte va du blanc sale au gris vert 375 ; le bord humide en contact avec le tube est vert 220. Après un mois, la culture est uniformément veloutée, 119 foncée, la pomme de terre n'est pas pigmentée. En vieillissant l'aspect reste le même.

Sur milieu de Czapek, le développement est plus lent et plus pauvre. Après 48 heures, on voit quelques petites colonies blanches, glabres, transparentes. En haut de la gélose, au bout de 6 jours, les colonies, encore petites, sont noir verdâtre 225 foncé, avec le centre plus clair. Certaines portent un petit bouquet d'hyphes gris noirâtre. Le revers est de même teinte. Le Czapek, à peine pigmenté, est un peu bleu verdâtre au bord des colonies. Les autres sont blanches, glabres, ou montrent seulement un début de pigmentation. Au bout de 2 semaines, les colonies sont noir verdâtre, saillantes, mais avec un centre moins en plateau que sur milieu à 2 ‰. Celles du haut sont veloutées ; d'autres sont veloutées au centre, mais leur bord est encore glabre ; d'autres portent un bouquet d'hyphes central. A maturité, la couche veloutée d'hyphes fructifères est plus mince que

sur milieu à 2 % ; elle porte des gouttelettes de liquide exsudées incolores. Le thalle très résistant s'enfonce dans le milieu. Après un mois, les colonies sont noires avec des reflets marron, plus foncés que 119. Elles se sont légèrement aplaties : le centre est un peu surélevé, les bords sont plats ; le revers est noir. En vieillissant, les colonies demeurent plus noires que sur milieu à 2 % ; elles sont 70 foncé, avec revers encore plus foncé. Au bord des colonies, le Czapek devient 118 foncé et ailleurs se teinte de beige rosé 103 B.

Sur liquide de Raulin, le développement n'a pas lieu.

La liquéfaction de la *gélatine* est lente : 2 centimètres au bout d'un mois. *Le sérum coagulé* n'est pas liquéfié.

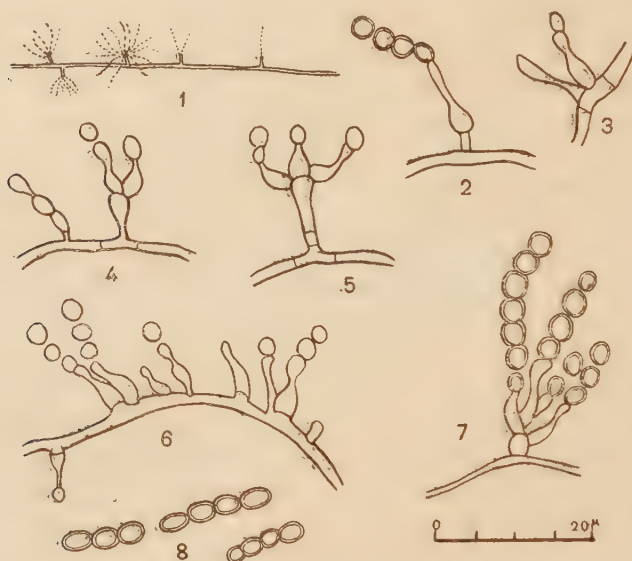
La *température* optima de développement est 22-26°. Le développement est pauvre à 37°.

L'odeur est très faible, presque nulle.

A aucun stade du développement et sur aucun des milieux de culture étudiés, nous n'avons vu de sclérote, ni de périthèce.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — Le thalle est formé de filaments mycéliens fins et lisses, de 1 à 2 μ de large, qui constituent un feutrage serré difficile à dilacérer ; les hyphes ont même diamètre. Nous n'avons vu aucun appareil fructifère corémié. Les filaments âgés ont un contenu granuleux, leur paroi est lisse. Les conidiophores, portés par les hyphes, débutent par un petit renflement qui s'isole de l'hyphe par une cloison transversale, puis s'allonge en une phialide (fig. 3 et 6). Celle-ci, à son tour, s'isole par le même mécanisme (fig. 2). La cloison peut manquer, surtout dans les parties jeunes, et la phialide s'insère alors directement sur l'hyphe (fig. 3). La forme et les dimensions des conidiophores varient : tantôt ce sont de petits éléments trapus de 2 à 3 μ sur 2 à 2 μ , 5, tantôt ils s'allongent en éléments de 5 à 12 μ , simples ou articulés, avec un pied grêle de 1 à 2 μ de diamètre et une tête renflée de 3 μ environ (fig. 4 et 5). Ces conidiophores portent de 1 à 8 phialides. Celles-ci, de 5 à 8 μ sur 2 à 3 μ , 5 de diamètre, ont la forme d'archégonas avec leur moitié inférieure renflée, surmontée d'un col grêle. Au-dessus de ce col, un autre renflement plus petit, isolé

ou non par une cloison, constitue la dernière conidie en formation (fig. 2 et 3). Les conidies sont petites, rondes ou subglobuleuses, de 2 à 3 μ , 5, à paroi assez épaisse fortement colorée en brun (fig. 8). Elles ressemblent aux conidies des *Penicillium* vrais et ne sont ni ovales, ni tronquées, comme celles des *Scopulariopsis* à grosses spores. Le réactif de Melzer n'agit point sur elles. Elles sont disposées par



S. Brumptii nov. sp : 1, schéma d'une hyphe fructifère ; 2, détails d'une phialide ; 3, phialides insérées directement sur l'hyphe ; 4, 5, détails de conidiophores ; 6, hyphe portant des appareils fructifères à divers stades de développement ; 7, détails d'un appareil fructifère ; 8, conidies mûres.

files mesurant, sur milieu à 2 %, 35 à 150 μ . Sur milieu à 6 %, elles ont de 30 à 220 μ . et, sur Czapek, de 30 à 150 μ . Certaines phialides portent une chlamydospore unique à paroi très épaisse.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Tous les *Scopulariopsis* à petites spores décrits par les auteurs sont des espèces de teinte claire : *Penicillium rubellum* (Bainier) Biourge, *Oospora cretacea* Harz. *Oospora rosatum* Biourge, *Scopula-*

riopsis blochii (Matruchot) Vuilemin etc... Le *Scopulariopsis* décrit ci-dessus, de teinte très foncée, ne se confond avec aucune des espèces figurant dans la littérature actuelle. Nous l'avons nommé *Scopulariopsis Brumptii*, en hommage à M. le professeur Brumpt qui, pendant deux années, nous offrit si aimablement l'hospitalité dans son laboratoire.

SCOPULARIOPSIS BRUMPTII NOV. SP.

Conidiis 2 μ -3 μ , 5, *rotundis*, *laevibus*; *phialidis basi dilatata*, 5 μ -8 μ /2 μ -3 μ , 5 *singulis*, *binis* *quinis* *vel octonis*; *conidiophoris loculosis vel non*, 2 μ -12 μ /2 μ -3 μ ; *filamentis laevibus*, 1 μ -2 μ ; *colore primo griseo, deinde nigro, tandem fusco*.

Scopulariopsis versicolor NOV. SP.

Souche 8740

Scopulariopsis à petites spores

CARACTÈRES CULTURAUX. — Développement assez lent sur les milieux usuels.

Gélose glucosée à 2 % : Après 48 heures, présence de petites colonies blanches, transparentes, d'aspect humide, adhérant fortement au substratum. Tout en haut du tube est déjà apparu un duvet blanc sale. Au bout d'une semaine, seules les colonies supérieures portent un bouquet d'hyphes duveteuses grisâtres, environ 523-524. Le revers des colonies est verdâtre. Vers le 10^e jour, sur les colonies, encore glabres à ce moment, apparaissent quelques bouquets d'hyphes blancs. L'aspect varie beaucoup au cours de la croissance : le thalle, encore visible pendant le développement des hyphes, reste parfois blanc, parfois se pigmente de 73 ; les hyphes demeurent très longtemps duveteuses, passant par toutes les teintes de gris avant de devenir veloutées, marron. Vers le 15^e jour, elles sont mi-blanches, mi-grises, 375, et le revers des colonies est gris verdâtre, plus foncé que 325. Au bout d'un mois, les colonies supérieures sont veloutées, marron 69-74 clair, le revers est presque noir.

Dans le reste du tube, elles sont partie marron, veloutées, partie grises et duveteuses. Peu à peu l'aspect s'uniformise. A maturité, les colonies sont saillantes, le centre est velouté, épais, le bord plat et très ras ; souvent elles portent quelque sillons rayonnés. Sous les hyphes, le thalle, assez enfoncé dans la gélose, demeure très résistant. Le vieillissement fait prendre aux cultures un aspect poudreux et une couleur 25-94-50. Le revers est foncé 115 vers le haut du tube, par transparence de la face supérieure ; il n'est presque pas coloré vers le bas. La gélose ne se pigmente pas. Les repousses sont rares, blanc grisâtre, laineuses, peu développées.

Gélose glucosée à 6 % : Développement plus riche, colonies saillantes et serrées. Glabres à l'origine, les colonies se couvrent progressivement d'hyphes, en passant par les mêmes stades que sur milieu à 2 % de glucose. Ces lymphes, d'abord laineuses, blanches, grisâtre 373, forment, vers 1^{er} mois, un tapis épais, gris violet 574, velouté. Le revers des colonies est noir 115-119. En vieillissant, la teinte tourne au 95-100 et l'aspect devient plus poudreux.

Gélose peptonée non glucosée : Développement pauvre. Le thalle mince et peu saillant se couvre lentement d'un réseau d'hyphes fructifères ras et de quelques bouquets laineux. A maturité, les colonies sont rases, de couleur café au lait, avec en leur centre ces maigres bouquets laineux, dont les hyphes ont tendance à se corémier. La gélose est devenue précocement 113-114.

Sur carotte : Le développement est bon et rapide. Après 24 heures, il y a déjà quelques petits points blancs, transparents. Au bout de 5 jours, on voit des hyphes duveteuses, très blanches, bien développées. Elles passent au gris 375 vers le 15^e jour. Il se développe en même temps, sur l'eau de carotte, un voile de même couleur à mycélium blanc. A ce moment l'eau de carotte n'est pas colorée. Vers un mois et demi, les colonies se veloutent et deviennent marron 68-50. A trois mois les vieilles cultures sont poudreuses, marron 94. L'eau de carotte a légèrement jauni 128 C.

Sur pomme de terre, le développement est bon. Après 48 heures, on voit de petites colonies punctiformes ; certaines portent quelques houppes blanches au centre. Au

bout d'une semaine, le mycélium végétatif est entièrement recouvert d'hyphes duveteuses, assez courtes, blanc pur. Puis au bout de 15 jours, une partie des hyphes blanches est remplacée par des hyphes gris violacé, plus veloutées, de teinte difficile à définir, beaucoup plus claire que 523. La pomme de terre est un peu jaunie 128 C. La teinte des hyphes fonce au 525-520 vers 1 mois. La pomme de terre est 128 D. En vieillissant, l'aspect devient plus poudreux.

Sur milieu de Czapek, le développement est plus lent et plus pauvre. Après 48 heures, on voit quelques petites colonies blanches, glabres, transparentes. Elles deviennent saillantes au bout de 6 jours ; celles du haut portent des hyphes laineuses, grisâtres, sauf sur leur bord encore transparent et glabre. Au bout de 2 semaines, les hyphes sont gris 375 ; elles se veloutent et passent au marron 94-95 vers 1 mois 1/2. Les colonies présentent souvent des zones concentriques, alternativement plus foncées et plus claires. Le revers est foncé, marron noir 115-119. A maturité, les colonies saillantes portent parfois un bouquet d'hyphes central, ou bien le centre se déprime et elles deviennent cratériformes. Sur le thalle très résistant, la couche d'hyphes poudreuses est moins épaisse que sur gélose glucosée. Le bord des colonies, plat et mince, est très large. Au cours du développement, le milieu de Czapek se teinte de beige rosé 103 B sale, puis de 117 clair. En vieillissant, les colonies demeurent 94-90 avec revers plus foncé.

Sur liquide de Raulin, le développement n'a pas lieu.

La gélatine est faiblement liquéfiée : 1 cm. 1/2 en 1 mois. Dans le même temps le *sérum coagulé* l'est très partiellement.

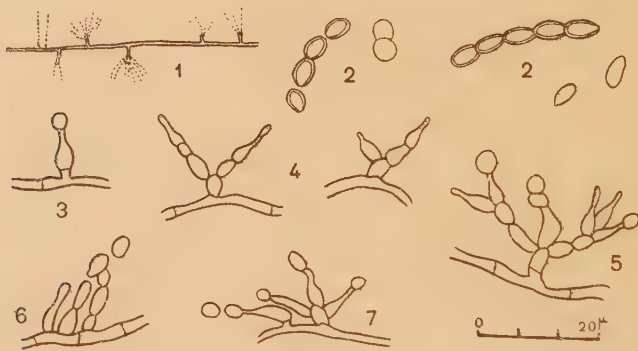
L'optimum cultural est 22-26°. A 37°, les cultures poussent très peu.

L'odeur est presque nulle.

A aucun stade de développement et sur aucun des milieux de culture étudiés, nous n'avons vu de sclérotés ni de périthèces.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — Le thalle est formé de filaments mycéliens fins, $1\ \mu$ à $2\ \mu$ de large (plus souvent $1\ \mu$), lisses, septés, qui forment un feutrage difficile à dila-

cérer. Les hyphes ont même diamètre. Ces éléments ont tendance à s'enrouler en cordons. Les conidiophores, portés par les hyphes, débutent par un petit renflement, qui s'isole de l'hyphe par une cloison transversale, puis s'allonge en une phalide (fig. 3 et 6). Celle-ci à son tour s'isole par une cloison (fig. 7), cloison qui peut manquer, surtout dans les parties jeunes, la phialide s'insérant alors directement sur l'hyphe (fig. 6). La forme et les dimensions des conidiophores varie beaucoup. Ils peuvent être courts et ventrus, mesurant $3\ \mu$ sur 2 à $3\ \mu$. Souvent, ce pied court est surmonté d'un ou plusieurs articles, plus ou moins allongés, de 3 à $7\ \mu$



S. Versicolor nov. sp : 1, schéma d'une hyphe fructifère ; 2, conidies ; 3, détail d'une phialide ; 4, appareils conidiens jeunes ; 5, 6, 7, appareils conidiens avec conidiophores diversement ramifiés.

sur $2\ \mu$ à $2\ \mu$, 5 (fig. 4 et 5), disposés comme des métules, et portant les phialides. En résumé, dans les parties jeunes, les phialides sont insérées côte à côte, soit directement sur l'hyphe, soit par l'intermédiaire d'un petit article. Dans les parties plus développées, elles sont portées, par bouquets de 3 à 10 , par des conidiophores plus ou moins septés et ramifiés. Les phialides, plus irrégulières que dans la souche 912, mesurent de 4 à $10\ \mu$ sur 1 à $2\ \mu$, 5. Leur moitié inférieure renflée est surmontée d'un col grêle portant la dernière conidie en formation (fig. 7). Les conidies ovales, à paroi lisse assez épaisse, de taille plutôt irrégulière, mesurent de 2 à $4\ \mu$ sur 1 à $2\ \mu$, 5 (fig. 2). Elle n'ont pas la base tron-

SCOPULARIOPSIS

Nom	S. breviculis var. glabra 1113	A. nigrum 9090	A. nigrum var. glabrum 242	A. nigrum var. glabrum 243	S. Brumptii 912	S. versicolor 8740
Couleur des colonies	blanche	marron violacé	marron violacé	marron violacé	brun noir	grise, puis marron
Exopigment	0	rosé	rosé	rosé	0	beige très clair
Liquéfaction de la gélatine	partielle --	partielle	totale	totale	partielle	partielle
Conidies	5-9 μ /4-7 μ lisses ovales	5-7,5 μ /4,5-6 μ échinulées ovales	4-8 μ /4-6 μ lisses ovales	4,5-9 μ /4-6 μ lisses ovales	2-3,5 μ lisses rondes	2-4 μ /1-2,5 μ lisses ovales
Files de conidies	20-120 μ	50-250 μ	70-150 μ	70-150 μ	35-150 μ	15-100 μ
Phialides	8-20 μ /2-4 μ	10-35 μ /2,5-3,5 μ	7-25 μ /2,5-3,5 μ	10-35 μ /2,5-3,5 μ	5-8 μ /2-3,5 μ	4-10 μ /1-2,5 μ
Conidiophores	4-10 μ /2-8 μ	3-10 μ /2-5 μ	3-12 μ /2,5-7 μ	3-10 μ /2,5-7 μ	2-12 μ /1-2 μ	3-7 μ /2-2,5 μ
Filaments mycéliens	2,5-4 μ	2-3,5 μ	2-4 μ	2-4 μ	1-2 μ	1-2 μ
Sclérotos	présence	présence	présence	présence	0	0

quée comme les grosses conidies des premières souches étudiées. Le réactif de Melzer n'a pas d'action sur elles. Elles sont disposées par files mesurant de 15 à 100 μ , en moyenne 50 μ , sur milieu à 2 % ; de 30 à 250 μ sur milieu de 6 % ; de 20 à 100 μ sur milieu de Czapek.

Nous n'avons pas vu de chlamydospores.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Le *Scopulariopsis* que nous venons de décrire, à spores ovales, de teinte passant du blanc grisâtre au marron, ne se confond avec aucune des espèces décrites dans la littérature. On ne peut le rapprocher ni des espèces de Biourge 1923, à pigment rose ou violacé, ni du *Scopulariopsis cinerea* de Weill et Gaudin 1928. Ce dernier a sensiblement la même teinte que notre souche, mais il a des conidies à base tronquée, de nombreuses chlamydospores, des périthèces se développant au bout de 3 semaines. Il diffère par conséquent de la souche que nous avons étudiée. Nous avons donné à celle-ci le nom de *Scopulariopsis versicolor* à cause de la diversité de ses teintes au cours du développement.

SCOPULARIOPSIS VERSICOLOR NOV. SP.

Conidiis 2 μ -4 μ /1 μ -2 μ , 5, *ovatis*, *laevibus* ; *phialidis basi dilatata* 4 μ -10 μ /1 μ -2 μ , 5, *singulis*, *binis*, *quinis vel denis* ; *conidiophoris inconstantissimis*, *loculis vel non*, 3 μ -7 μ /2 μ -3 μ ; *filamentis laevibus* 1 μ -2 μ ; *colore primo albido, deinde griseo murino, tandem badio*.

CHAPITRE IV

ACTINOMYCES HARZ 1877

En 1875, Perroncito étudie les grains isolés d'une ostéite de bovidés et en établit la nature cryptogamique. Deux ans plus tard, Harz confirme cette donnée et crée l'espèce *Actinomyces bovis*. Depuis lors les travaux abondent sur ces champignons qui sont successivement désignés sous les noms de *Nocardia*, *Discomyces*, *Streptothrix*, *Cohnistrep-thrix*, *Actinomyces*. C'est le nom d'*Actinomyces* qui a la priorité et qui doit servir à nommer ce groupe de champignons. C'est celui qui a été adopté par le comité des Bactériologistes américains, dont la classification fait actuellement autorité. Maintes espèces sont créées à la suite de cas rencontrés en clinique ; d'autres sont trouvées comme saprophytes. Cette synonymie abondante et cette diversité d'origine ont rendu la question des *Actinomyces* longtemps confuse. Et il existe nombre d'*Actinomyces* auxquels il est impossible de rapporter les nouveaux individus trouvés.

Pour classer les souches que nous avons étudiées, nous avons choisi la classification de Foulerton, adoptée par Langeron. Il divise les *Actinomyces* en trois sections :

1^o Les *Majores* qui comprennent les *Actinomyces* facilement cultivables, produisant une efflorescence blanche crétaée, ayant des filaments ramifiés, en général non acidorésistants. Les cultures sont faciles sur pomme de terre, gélatine, sérum coagulé, ces deux derniers milieux étant liquéfiés. L'amidon cuit est digéré ; les cultures répandent souvent une odeur de moisi.

2^o Les *Minores*, faciles à cultiver, mais végétant assez pauvrement, non efflorescents, peu ramifiés ; les filaments

sont souvent acido-résistants. Ils ne liquéfient pas la gélatine et le sérum coagulé ou ne liquéfient que l'un des deux. L'amidon cuit n'est pas digéré.

3^o Les *Breviores*, dont le principal représentant est l'*Actinomyces Israeli*, et auxquels se rapporte le genre *Cohnistreptothrix* de Pinoy, sont généralement anaérobies, difficiles à cultiver. Les filaments sont peu ou pas ramifiés et forment des éléments bacilliformes, mais sans endospores ni arthrospores. Ils ne liquéfient ni la gélatine, ni le sérum coagulé ; ils ne digèrent pas l'amidon cuit.

Orskov a donné une classification très comparable à celle de Foulerton. Il divise les *Actinomyces* en 3 groupes :

GRUPE I. *Cohnistreptothrix* (1) correspond à la section des *Majores*. Ce groupe est caractérisé par un mycélien végétatif rampant, ramifié, non cloisonné, et par un mycélium aérien dressé, plus épais que le mycélium végétatif et plus ou moins ramifié : le contenu des filaments aériens se divise en portions égales qui donnent des spores par simple constriction de la membrane, sans qu'il y ait formation de cloisons ; sur milieux liquides, il y a aussi formation d'hyphes aériennes sporifères.

GRUPE II. *Actinomyces*.

Groupe IIa. — Contient des champignons ayant des caractères assez conformes à ceux des *Minores*. Ce groupe est caractérisé par un mycélium végétatif et un mycélium aérien semblables, peu ramifiés. Tous deux se divisent, par cloisonnement, en petits éléments de dimensions assez variables. En milieu liquide, le mycélium immergé forme de petites colonies rondes ; en surface il se produit des squames ou des pellicules. Les champignons de ce groupe sont polymorphes.

Groupe IIb. — Il est caractérisé par l'absence de mycélium aérien et la division spontanée des filaments en seg-

(1) ORSKOV emploie le nom de *Cohnistreptothrix* pour les *Actinomyces* efflorescents, ceci peut prêter à confusion.

ments. Dans ce groupe, certains champignons présentent un mode de croissance angulaire tout à fait identique à celui du *Corynebacterium diphthericeae*. Ce groupe IIb correspond sensiblement aux *Breviores*.

GRUPE III. *Micromonospora*, créé pour le *Streptothrix chalcea*, type tout à fait particulier, qui a un mycélium ramifié, délicat, et dont les spores sont isolées à l'extrémité des rameaux.

Dans notre travail sur les *Actinomyces* nous avons porté notre effort sur l'étude de la morphologie des quelques souches qui étaient entre nos mains. C'est ici que la méthode des cultures sur lames nous a été extrêmement utile. Nous avons utilisé des tubes de Borrel contenant un support prismatique et trois lames. Ce matériel était préalablement stérilisé à la chaleur sèche; puis les lames étaient plongées soit dans la gélose glucosée à 2 %, soit dans du milieu de Czapek (dans ce cas, gélose et Czapek ne contenaient qu'à 6 % de gélose). Pour éviter la dessiccation des cultures, nous ajoutons quelques cc. d'eau stérile au fond des tubes de Borrel, et nous les plaçons, après ensemencement, à l'étuve dans des bocaux fermés, avec un peu d'eau stérilisée dans le fond. Ainsi nous avons suivi pas à pas le développement des souches et nous avons pu voir l'aspect des cultures sur place, sans qu'il ait été modifié par les procédés habituels de dilacération.

Les cultures sur lames étaient observées sans coloration, ou bien colorées par les méthodes de Gram, Ziehl, ou Fontès. Nous avons légèrement modifié cette dernière de la façon suivante : on traite la préparation pendant 5 minutes, à chaud, par la fuchsine phéniquée de Ziehl; on lave à l'eau distillée; on colore 30 secondes seulement par le violet de gentiane; on ajoute la solution de Lugol qu'on laisse agir environ 30 secondes; on différencie par un mélange de 2/3 d'alcool absolu et 1/3 d'acétone, et on lave à l'eau. Nous traitons rapidement par le violet de gentiane et la liqueur de Gram, parce que les colorants, retenus par la pellicule de gélose de la lame, donnent des préparations épaisses, mal différenciées.

Le procédé des cultures sur lames est analogue au procédé

employé par Orskov pour étudier la morphologie des *Actinomyces*, mais il est d'un emploi beaucoup plus aisé. Orskov prend de petits blocs de milieu gélosé de quelques millimètres d'épaisseur et les fixe sur lame ; il les enseme, puis les place en boîtes de Pétri, où se poursuit le développement. Il observe ensuite les cultures directement, sans dilacération. Les observations morphologiques que nous avons faites se sont trouvées tout à fait conformes à celles d'Orskov.

Les milieux obtenus sur lames ont encore l'avantage de constituer des milieux pauvres. S'ils sont ensemencés assez largement, le cours du développement est plus rapide, les colonies sont petites et la morphologie y est facile à observer.

Actinomyces albus (ROSSI DORIA 1891) KRAINSKY A 1914

Souches N° 9068, A, 912, 915, 7/6 B, 9090

CARACTÈRES CULTURAUX. — *Gélose glucosée à 2 %* : Le développement est bon, sans qu'il soit nécessaire de neutraliser le milieu. A 37°, le 2^e jour, apparaissent de petites colonies punctiformes, glabres, translucides, fortement adhérentes au substratum. Elles deviennent hémisphériques avec un centre assez saillant. Elles sont fortement enfoncées dans la gélose, difficiles à dilacérer, comme cartilagineuses. Dans les parties les plus sèches, il apparaît très vite sur les colonies une efflorescence blanche ; dans les parties humides, cette apparition est beaucoup plus tardive. L'efflorescence débute le plus souvent au centre des colonies. Lorsque les colonies sont entièrement recouvertes de cet enduit poudreux, leur bord n'est plus net, mais paraît effrangé. Les colonies nées d'un ensemencement pauvre sont en forme régulière de calotte sphérique, celles développées à partir d'un ensemencement riche sont plus ou moins mamelonnées, ridées, irrégulières, parfois vermiculées. Quand l'efflorescence apparaît, elle est blanc pur ; parfois elle devient légèrement blanc rosé 103 A ; en vieillissant elle prend une teinte un peu plus jaunâtre. Le revers des colonies jeunes

est de la teinte de la gélose, puis il devient jaunâtre, parfois un peu orangé 137 et finalement brun 128-129 dans les parties les plus épaisses. La gélose brunit au cours du développement, grâce probablement à l'action de la tyrosinase sur la tyrosine, car il n'y a pas de véritable exopigment. Les colonies vieilles, complètement efflorescentes, se détachent très facilement de la gélose comme si le mycélium végétatif avait disparu.

Gélose maltosée à 2% : Le développement est plus pauvre que sur le milieu précédent. Au bout de 3 jours, on voit de petites colonies glabres ; elles se développent lentement et l'efflorescence apparaît tardivement. Ainsi, tandis qu'après 8 jours une culture sur gélose glucosée est déjà recouverte de poussière blanche, celle-ci commence seulement à apparaître sur le milieu maltosé.

Milieu de Czapek : Le développement est bon, mais moins abondant que sur gélose glucosée. Les colonies apparaissent d'abord punctiformes, transparentes vers le 2^e jour, puis elles deviennent rapidement poudreuses. Les colonies sont moins saillantes, l'efflorescence est plus fine que sur gélose glucosée. Au cours du vieillissement, l'efflorescence reste blanche, le revers devient légèrement jaunâtre, mais le Czapek n'est coloré par aucun exopigment.

Eau peptonée glucosée à 2 %. Dans le liquide, il se forme des colonies pelotonnées, sphériques, difficiles à dilacérer ; certaines sont petites, d'autres peuvent devenir beaucoup plus grosses. En surface, il se développe un voile qui monte le long des parois du tube et devient efflorescent.

Pomme de terre glycinée : Les développement est bon et rapide. Le 3^e jour, on voit de petites colonies glabres et translucides. En haut de la pomme de terre, ces colonies deviennent très rapidement efflorescentes. Cette efflorescence blanche apparaît beaucoup plus tard vers le bas, qui est plus humide. La pomme de terre brunit et devient 154-155. Le liquide jaunit et prend une teinte 152-157. Sur ce milieu, les colonies deviennent épaisses et l'efflorescence abondante.

Eau de pomme de terre : Il se développe quelques flocons dans le liquide, certains s'attachent aux parois du tube. En surface se développe un voile, efflorescent après une

dizaine de jours, qui monte le long de la paroi. La partie du revers adhérent au tube devient jaunâtre, puis brune. L'eau de pomme de terre jaunit peu à peu vers le 156 sale-157.

Lait écrémé neutralisé. Des colonies se forment dans le liquide, en même temps se développe un voile qui devient rapidement efflorescent. Le lait est peptonisé, sans qu'il y ait eu coagulation. Le liquide devient complètement clair au bout de 20 jours à 1 mois. Le milieu s'alcalinise, le pH est 8,5 après un mois.

Gélatine. La liquéfaction est partielle, 4 centimètres après 20 jours.

Sérum coagulé. Tout le fond du tube est liquéfié au bout d'un mois, il ne reste qu'un peu de sérum coagulé desséché et durci à la partie supérieure du tube.

Amidon. L'amylolyse est lente. L'empois à 10 % est légèrement hydrolysé et sa teinte est devenue grise sur une hauteur de 2 centimètres après 15 jours. Sur amidon l'efflorescence est rosée, 103 A.

Fermentation des sucres. Le glucose, le maltose, le saccharose, le lactose n'ont pas fermenté.

Culture en anaérobiose. Le développement est très pauvre et lent. En atmosphère de gaz carbonique, à 37°, les colonies sont visibles vers le 4^e ou 5^e jour; elles restent petites et ne deviennent que très tardivement efflorescentes.

Action de la température. L'étude simultanée du développement à 17°, 26°, 37°, 42° a donné les résultats suivants : le développement est plus précoce à 37° qu'aux autres températures. Cependant, au bout de quelques jours, il est également abondant à 26°. Il est plus lent, mais bon à 17°. Enfin à 42° il se forme des colonies petites et minces, portant tardivement quelques efflorescences.

Action du pH sur le développement. — Nous avons comparé le développement sur eau peptonée aux pH suivants :

pH 5 : pas de développement ;

pH 6 : quelques flocons au fond du tube, léger voile en surface ;

pH 7 : quelques flocons dans le liquide, voile bien développé efflorescent, montant le long des parois en surface. Le milieu reste clair et a tendance à s'alcaliniser : pH = 7,5 après 10 jours.

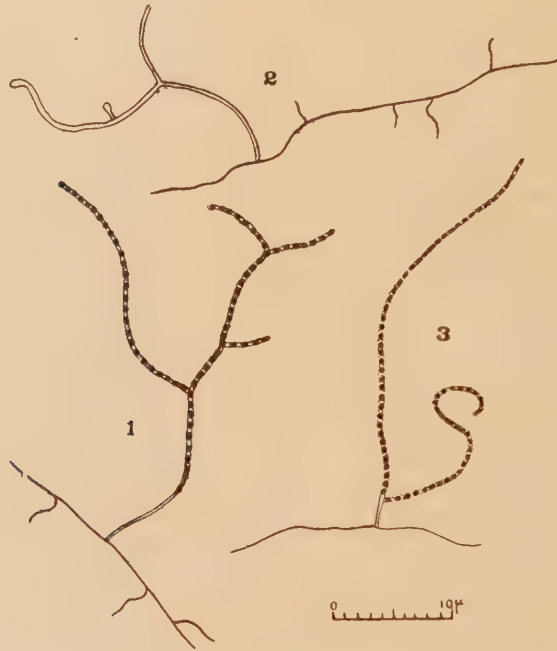
pH 8 : quelques colonies dans le fond du tube contre les parois.
En surface, voile épais, efflorescent, discontinu. La réaction n'est pas modifiée.

En résumé, le développement est meilleur en milieu neutre ou légèrement alcalin qu'en milieu acide.

Odeur. Les colonies ont une odeur de cave et de moisi.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — Nous avons étudié la morphologie de cultures sur lames. Sur une culture de 24 heures,ensemencée avec un peu d'efflorescence préalablement diluée, on voit de petits corps sphériques (spores) en germination. Ces spores sont un peu plus grosses que celles n'ayant pas germé. Elles donnent naissance à un ou plusieurs filaments un peu plus épais que ceux qui se développent ensuite. Très rapidement, ces filaments donnent des branches latérales, plus fines que la branche principale. Ces branches latérales se ramifient aussi, de sorte qu'il se forme une petite colonie enchevêtrée. Les ramifications naissent sensiblement à angle droit avec le filament principal et prennent ensuite une direction oblique. Le mycélium végétatif, ainsi constitué, est formé d'éléments qui mesurent en moyenne $0\ \mu$, 2 à $0\ \mu$, 3 de diamètre. Ces filaments jeunes ont un contenu homogène. Avec le temps leur protoplasme se condense en certains points, tandis que les parties voisines paraissent vides. Il se forme ainsi des granulations, d'abord larges, qui remplissent presque tout le filament et laissent peu de vide entre elles. Puis ces granulations se fragmentent de plus en plus. Finalement, après coloration par la méthode de Fontès, on voit des filaments rose pâle contenant de très nombreux petits points violets. Cette condensation protoplasmique apparaît d'abord au centre des colonies. Elle est très inégale suivant les lames. Sur le mycélium végétatif, après quelques jours, se dressent les hyphes aériennes. Elles apparaissent d'abord au centre des colonies et se disposent généralement en cercles concentriques. Ces filaments, sensiblement 2 fois plus gros que les filaments végétatifs, ont de $0\ \mu$, 4 à $0\ \mu$, 5 de diamètre environ. Ils sont souvent plus larges à leur extrémité antérieure qu'à

leur point d'attache ; ceci est surtout très net pour les ramifications courtes. Le mycélium aérien est moins ramifié que le mycélium végétatif. Certaines hyphes sont droites, d'autres sont enroulées en vrille, d'autres enfin simplement recourbées en crosse. En suivant le développement des hyphes aériennes, on voit, au bout de quelque temps, se former des endospores. L'hyphe sur le point de sporuler, observée



A. albus (Rossi Doria) Krainsky : 2, filaments jeunes ; 1, hyphe aérienne avec endospores ; 3, hyphe sporulée, en forme de crosse.

avec attention, n'a plus un bord absolument rectiligne. Elle présente une série d'étranglements qui commencent à la partie antérieure et peuvent soit aller jusqu'à la base du filament, soit se continuer par une portion régulière plus fine. En même temps le protoplasme se divise en parties sensiblement égales. On voit bientôt une file d'éléments ronds, retenant fortement les colorants : ce sont les endospores ; elles mesurent de $0\ \mu, 4$ à $0\ \mu, 7$ (fig. 1-3). Un peu plus tard, les filaments sporulés se fragmentent en chaî-

nettes, puis finalement les spores s'isolent ou restent groupées par 2 ou 3. Ceci se voit surtout au centre des colonies (planche hors-texte fig. 3).

Les filaments et les endospores prennent le Gram, mais ne sont pas alcoolo-acido-résistants.

Les *Actinomyces albus* que nous avons étudiés n'ont jamais formé d'arthrospores. Certains filaments peuvent se briser, mais d'une façon irrégulière et accidentelle. Les arthrospores signalées par de nombreux auteurs ne sont certainement qu'une apparence, due à l'examen de préparations faites suivant la méthode bactériologique. De telles préparations ont un aspect hétérogène. On y voit des filaments plus ou moins ramifiés, des hyphes aériennes sporulées, des spores en amas, des bâtonnets irréguliers provenant de filaments rompus par l'étalement. Ce sont ces derniers qui souvent ont dû être pris pour des arthrospores.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Ces souches, aérobies préférantes, de culture facile, efflorescentes, se classent parmi les *Majores*. A cause de l'efflorescence blanche, du bord légèrement frangé des colonies, du revers jaunâtre, nous les avons identifiées à l'*Actinomyces albus* (Rossi Doria 1891) Krainsky A. 1914.

***Actinomyces viridis* DUCHÉ 1934**

Souches N° 1113 et 7/6 B

CARACTÈRES CULTURAUX. — *Gélose glucosée* à 2 %. Ces souches se développent bien, sans qu'il soit nécessaire de neutraliser le milieu. Au bout de 2 jours à 37°, on peut voir de petites colonies assez saillantes, translucides, d'aspect visqueux, semblables à des colonies bactériennes, mais fortement adhérentes au substratum et très difficiles à dilacerer. Dès le 3^e jour, elles se couvrent d'une efflorescence blanche dans les parties les plus sèches. Celle-ci apparaît d'abord au centre, puis envahit peu à peu toute la colonie ; en même temps, elle passe du blanc pur au blanc verdâtre

222 sale. Les colonies sont en forme de calotte sphérique, à bord nets. Le revers, d'abord jaunâtre, devient brun verdâtre 157 sale, plus foncé au centre qu'à la périphérie. La gélose brunit, mais il n'y a pas d'exopigment. Les vieilles colonies efflorescentes se détachent facilement du substratum.

Gélose maltosée à 2 %. Le développement est moins riche et la sporulation plus tardive que sur le milieu précédent. Les colonies sont plus plates ; le revers est jaunâtre, moins foncé que sur gélose glucosée.

Milieu de Czapek. Bon développement sur ce milieu : vers le 3^e jour apparaissent des colonies punctiformes, glabres, lisses, qui se couvrent, vers le 6^e jour, d'une efflorescence blanche, puis blanc verdâtre. Le revers des colonies est blanc jaunâtre ; le Czapek ne se colore pas.

Eau peptonée glucosée à 2 %. En profondeur se forment quelques petites colonies pelotonnées. En surface, il se développe un voile qui se couvre d'efflorescences blanc verdâtre.

Pomme de terre glycinée. Le développement est bon. Il apparaît un enduit adhérent, transparent, qui se couvre d'efflorescence à la partie supérieure de la pomme de terre ; bientôt toute la culture devient poudreuse. L'efflorescence d'abord blanche, passe au blanc verdâtre sale. La pomme de terre brunit, la teinte est surtout foncée au bord des cultures, 155 environ : l'eau jaunit un peu et prend une teinte 152-157.

Eau de pomme de terre. Il se développe quelques petits flocons dans le liquide ; certains s'attachent aux parois du tube. En surface se forme un voile, abondant surtout contre la paroi. Il devient efflorescent, blanc verdâtre ; le revers est jaune brunâtre.

Lait écrémé neutralisé. Dans le liquide se développent des thalles et en surface un voile qui devient efflorescent. Il y a peptonisation sans coagulation, et le liquide devient transparent. En même temps, il y a alcalinisation : au bout de 15 jours, pH = 8.

Gélatine. La liquéfaction est partielle : 1 centimètre après 20 jours.

Sérum coagulé. Liquéfaction partielle après 1 mois 1/2.

Amidon. L'amylolyse est lente. L'empois à 10 % est légèrement hydrolysé et a pris une teinte grise sur 1/2 centimètre de hauteur après 15 jours.

Fermentation des sucres. Le glucose, le maltose, le saccharose, le lactose n'ont pas fermenté.

Culture en anaérobiose. Le développement est lent ; en atmosphère de gaz carbonique, à 37°, les colonies apparaissent vers le 4^e jour. Il se produit tardivement une légère efflorescence.

Action de la température. L'étude simultanée du développement à 17°, 26°, 37°, 42° a donné les résultats suivants : le développement est plus précoce à 37° qu'aux autres températures, mais, au bout de quelques jours, il est également abondant à 26°. Il est plus lent à 17°. Enfin, à 42°, il est très pauvre ; il se forme un enduit très mince, portant tardivement quelques efflorescences.

Action du pH sur le développement. Nous avons observé le développement sur eau peptonée aux pH suivants :

pH 5 : pas de développement.

pH 6 : quelques flocons au fond du tube.

pH 7 : au fond du tube, quelques colonies rondes, floconneuses se développent ; en surface, un voile incomplet monte le long des parois du tube ; le bouillon reste clair ; il y a une légère alcalinisation : pH = 7,6.

pH 8 : le développement est bon dans le fond du tube, mais il n'y a rien en surface ; la réaction n'est pas modifiée.

En résumé, le développement est optimum en milieu neutre ; au cours de la croissance, on peut constater une légère alcalinisation.

Odeur. Les colonies ont une odeur de moisi et de terre.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — La morphologie est très sensiblement celle de l'*Actinomyces albus*. Le mycélium végétatif, très fin, abondamment ramifié, mesure environ 0 μ , 2 à 0 μ , 3 de diamètre. Les ramifications naissent à angle droit sur le filament ; au fur et à mesure de leur développement, elles prennent une direction oblique. Les filaments, en vieillissant, ont tendance à se rompre. Le mycé-

lium aérien est formé de filaments plus larges, de $0\mu,4$ à $0\mu,5$. Jeunes, ces filaments ont un contenu homogène ; puis, comme dans l'*Actinomyces albus*, il se produit une condensation protoplasmique, et certains filaments apparaissent rose pâle, avec des granulations violettes (fig. 2) dont le nombre varie beaucoup d'une lame à l'autre. Les hyphes aériennes sont généralement longues et peu dichotomisées.



A. viridis Duché : 1, filament très jeune ; 2, début de condensation du protoplasme ; 3 et 4, hyphes aériennes sporulées.

tomisées. Elles apparaissent précocement au centre des colonies et deviennent très abondantes. Certaines sont enroulées en crosse, les autres en vrille. Elles se divisent en endospores, comme celles de l'*Actinomyces albus*. Le contenu des filaments aériens se divise en portions égales, tandis que la paroi forme une série d'étranglements. Les spores formées à l'extrémité antérieure sont les plus grosses ; elles vont en s'allongeant au fur et à mesure qu'on s'approche de la base du filament (fig. 3-4). Certains filaments se divisent ainsi en spores jusqu'à leur base, d'autres ne divisent

que leur partie antérieure. Les spores restent d'abord alignées dans la forme primitive du filament, puis il y a rupture par petits groupes ; enfin elles s'isolent, et, dans les vieilles colonies, elles sont en amas désordonnés. Elles sont ovales, assez grosses et mesurent de $0\ \mu$, 5 à $0\ \mu$, 7 de long. Pas plus que l'*Actinomyces albus*, nous n'avons vu cette souche former des arthrospores.

Les filaments jeunes et les spores prennent le Gram ; ils ne sont pas alcool-acido-résistants.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Cet *Actinomyces* aérobic, facile à cultiver, à colonies efflorescentes, se classe parmi les *Majores*. Ne produisant pas d'exopigment, il fait partie du groupe des *Actinomyces albus*. A cause de la précocité et de la couleur verdâtre de son efflorescence, nous l'avons identifié à l'*Actinomyces viridis* Duché 1934.

Actinomyces Almquisti Duché 1934

Souche 911

CARACTÈRES CULTURAUX. — *Gélose glucosée à 2 %* : Sur ce milieu préalablement neutralisé, le développement est plus précoce et plus riche qu'en milieu acide. Au bout de 3 jours à 37°, on voit de petits thalles ronds, translucides, d'aspect visqueux, fortement adhérents au milieu. En se développant, les colonies se rident légèrement. Il se produit bientôt une très légère efflorescence soit au centre, soit au bord des colonies. Cette efflorescence n'augmente pas ; les vieilles colonies sont simplement plus ridées. La gélose brunit, grâce probablement à l'action de la tyrosinase sur la tyrosine, car cet *Actinomyces* ne produit pas de véritable exopigment.

Milieu de Czapek : Après 3 jours de culture à 37° sur ce milieu apparaissent de petites colonies plates, transparentes. En se développant, elles forment de petites pelli-cules ridées, transparentes, qui deviennent, en vieillissant, moins adhérentes, tout en restant difficiles à dilacérer. Il ne se forme pas d'efflorescence.

Eau peptonée glucosée à 2.‰ : Il se forme de petits flocons au fond du tube. En surface se développe un léger voile ayant tendance à monter le long du tube. Ce voile, au contact de la paroi, est légèrement efflorescent. Le liquide reste clair.

Pomme de terre glycélinée : Sur ce milieu acide, de $\text{pH} = 5,5$ le développement n'a pas lieu.

Pomme de terre alcalinisée : Comme le développement n'a pas lieu sur le milieu précédent, nous avons préparé un milieu légèrement alcalin, en faisant tremper des morceaux de pomme de terre, pendant 24 heures, dans de l'eau additionnée de carbonate de sodium. Nous avons ainsi obtenu un milieu de $\text{pH} = 7,8$ sur lequel notre souche s'est très bien développée. On a obtenu un thalle transparent, d'aspect visqueux, plissé. En quelques points, surtout à la partie supérieure de la pomme de terre, apparaît une légère efflorescence. La couleur de la pomme de terre ne fonce pas beaucoup, elle devient jaune sale 153 D foncé-147, l'eau est 203 B.

Eau de pomme de terre. Il se développe de petites colonies rondes, floconneuses, qui tombent au fond du tube, ou qui se collent contre la paroi. Le voile est peu développé, uniquement contre la paroi.

Lait écrémé neutralisé. Il se forme en surface un voile qui grimpe le long des parois du tube. Le lait est peptonisé, sans qu'il y ait eu coagulation. Il s'alcalinise pendant le développement, le pH devient 7,8.

Gélatine. La liquéfaction est très faible : 1 2 centimètre liquéfié au bout d'un mois.

Sérum coagulé. Il n'est pas attaqué après 1 mois 1/2.

Amidon. Au bout d'un mois, l'amylolyse est très faible.

Fermentation des sucres. Le glucose, le maltose, le saccharose, le lactose n'ont pas fermenté.

Culture en anaérobiose. Le développement a lieu dans une atmosphère de gaz d'éclairage, mais est beaucoup plus faible et beaucoup plus lent qu'en aérobiose.

Action de la température. Le développement comparé à 17° , 26° , 37° , et 42° a donné les résultats suivants : c'est à 37° que le développement est le plus précoce. Il est un peu plus lent, mais également abondant à 26° . Beaucoup plus

lent à 17°, il se fait cependant bien à cette température. A 42°, il est plus pauvre et il n'apparaît aucune efflorescence.

Action du pH sur le développement. Nous avons observé le développement sur eau peptonée glucosée à différents pH.

pH = 5 : le développement n'a pas lieu.

pH = 6 : le développement n'a pas lieu.

pH = 7 : développement au fond du tube, sans que la réaction du milieu soit modifiée.

pH = 8 : dans le bouillon, petites colonies au fond et contre les parois du tube ; en surface, léger voile grimpant le long des parois. La réaction du milieu n'est pas modifiée. C'est à ce pH que le développement est le plus abondant.

Odeur. Odeur de cave humide, moins marquée que chez les espèces précédentes.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — La morphologie est sensiblement la même que celle des espèces précédentes. Le mycélium végétatif est formé de filaments très fins, mesurant de 0 μ , 1 à 0 μ , 2, plus ramifiés que dans les *Actinomyces albus* et *Actinomyces viridis*. Ces ramifications, nombreuses et courtes, à départ perpendiculaire à l'axe principal, gardent souvent cette direction, au lieu de devenir obliques, comme cela se produit généralement au cours de la croissance. Elles donnent aux colonies un aspect emmêlé et échevelé. Alors que le contenu des filaments jeunes est homogène, dans les filaments plus âgés, le protoplasme se condense ; les espaces vides sont colorés en rose pâle, tandis que le protoplasme condensé fixe fortement le colorant, et que les hyphes paraissent remplies de granulations violettes. Ce phénomène est très marqué dans cette souche : les granulations, très régulières à certains endroits, ont presque l'aspect de petites spores.

Les hyphes aériennes, deux fois plus larges que les filaments végétatifs, 0 μ , 3 à 0 μ , 4, sont dressées. Elles sont rares et apparaissent assez tardivement, d'abord au centre des colonies. Les hyphes sont plus larges à leur extrémité.

antérieure et vont en s'amincissant jusqu'à leur point d'attache à une hyphe principale ou à un filament mycélien. Ceci est surtout visible chez les hyphes encore courtes. Certains filaments sont droits, d'autres sont enroulés en vrilles, d'autres recourbés en cresses. Comme chez les espèces franchement efflorescentes, mais plus tardivement, les hyphes se divisent en endospores par le processus habituel : le



A. Almqvistii Duché : 1, filaments végétatifs et filaments aériens jeunes ;
2, filament aérien sporulé.

contenu des filaments se divise en portions égales et les spores s'individualisent par constriction de la membrane (fig. 2). Les endospores ainsi formées sont petites, rondes, de 0 μ , 4 environ de diamètre, très rapprochées les unes des autres au début de leur formation ; ensuite les filaments aériens sporulés se fragmentent et, dans les parties plus âgées, les spores sont groupées en amas. Comme les espèces précédentes, cet *Actinomyces* ne forme pas d'arthrospores : les filaments âgés peuvent se rompre et simuler ainsi, dans

un étalement sur lame, l'aspect d'arthrospores. Mais ce n'est qu'une apparence.

Les filaments jeunes et les spores prennent le Gram ; ils ne sont ni alcoolo, ni acido-résistants.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Cet *Actinomyces* aérobie et très ramifié appartient aux *Majores*. Son absence de pigment le classe parmi les *Actinomyces* du groupe *albus*. Ses caractères cultureux : faible efflorescence, non attaque du sérum coagulé, nous l'ont fait identifier à *Actinomyces Almquisti* Duché 1934.

***Actinomyces Langeroni* NOV. SP.**

Souche 924

CARACTÈRES CULTURAUX. — *Gélose glucosée à 2 %*. Cette souche, qui paraît très sensible à l'acidité du milieu, pousse beaucoup mieux lorsque ce dernier a été neutralisé. Sur gélose glucosée à 2 %, le développement est assez lent. Le 3^e jour, les colonies sont petites, rondes, translucides, d'aspect visqueux, adhérentes au substratum. En se développant, elles deviennent plus faciles à détacher, plus faciles à dilacérer, mais restent transparentes et d'aspect brillant. Elles sont peu épaisses, ridées, et le développement n'est jamais très abondant.

Milieu de Czapek. Le développement, sensiblement le même que sur le milieu précédent, est cependant plus pauvre. Les colonies sont transparentes, peu visibles. Il ne se produit pas d'efflorescence. Aucun exopigment ne colore le Czapek.

Eau peptonée glucosée à 2 %. Il se forme à la surface un léger voile, grimpant le long des parois du tube. En profondeur, il apparaît de petites colonies pelotonnées, cotonneuses.

Pomme de terre glycinée. Développement presque nul, ce qui est dû très vraisemblablement à la réaction acide du milieu.

Pomme de terre alcalinisée. Le développement n'ayant pas eu lieu sur pomme de terre glycinée, nous avons employé

le même milieu alcalinisé suivant la méthode décrite pour la souche 911. Dans ces conditions, notre souche s'est parfaitement développée. Il se forme sur la pomme de terre un enduit d'aspect visqueux, transparent, cérébriforme, avec quelques points blancs, mats. La pomme de terre ne brunit pas, même après plusieurs mois.

Eau de pomme de terre. Le long des parois du tube monte un voile d'aspect visqueux. Dans le fond du tube et dans le bouillon, collées le long des parois, quelques colonies sphériques, cotonneuses se développent.

Lait écrémé neutralisé. Il y a peptonisation sans coagulation préalable. La réaction devient alcaline : $\text{pH} = 8$ au bout de 12 jours.

Gélatine. Elle est partiellement liquéfiée : 3 cm. 5 au bout d'un mois.

Sérum coagulé. Il est à peine attaqué après 1 mois 1/2.

Amidon. L'amidon n'est pas digéré.

Fermentation des sucres. Le glucose, le maltose, le saccharose, le lactose n'ont pas fermenté.

Culture en anaérobiose. Aérobie, cet *Actinomyces* s'est cependant développé dans une atmosphère de gaz d'éclairage. Mais, dans ces conditions, le développement est lent et très pauvre.

Action de la température. Nous avons étudié comparative-ment le développement à 17°, 26°, 37°, 42°. C'est à 37° qu'il est le plus précoce. Il est un peu plus lent à 26°, beaucoup plus lent à 17°, mais se fait bien à ces 2 températures. A 42°, il a lieu, mais il est très pauvre.

Action du pH sur le développement. Nous avons observé le développement sur eau peptonée glucosée à différents pH.

pH 5 : le développement n'a pas lieu.

pH 6 : développement pauvre.

pH 7 : développement plus abondant ; au bout de 10 jours, il y a eu une très légère alcalinisation du milieu.

pH 8 : le développement est aussi bon qu'en milieu neutre ; la réaction n'a pas changé après 10 jours.

Comme pour les souches précédentes, le développement est meilleur en milieu neutre ou alcalin qu'en milieu acide.

Odeur. Les cultures ont une odeur de pomme de terre moisie d'intensité très variable.

MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE. — Cette souche est très différente des *Actinomyces* précédents. Ici le thalle est homogène : on ne peut distinguer les hyphes aériennes du mycélium végétatif. Les filaments, assez gros, de 0 μ , 3. à 0 μ , 5 de



A. Langeroni nov sp : 1, filament très jeune ; 2, filament venant de se diviser en arthrospores ; 3, arthrospores un peu plus âgées ; 4, arthrospores encore plus âgées.

diamètre, sont plus droits, moins ramifiés que chez les espèces précédentes. Les ramifications, plus courtes d'une manière générale, sont d'abord à angle droit avec le filament principal et prennent ensuite une direction oblique. L'extrémité antérieure des hyphes aériennes est généralement renflée ; ceci est surtout nettement visible pour les filaments encore très courts. Dans les cultures jeunes, les filaments ont un contenu homogène et se colorent fortement

par le violet de gentiane (fig. 1). Certains, plus âgés, montrent des granulations fortement colorées, dues à la condensation du protoplasme, tandis que les parties voisines sont pâles et vides.

Certains filaments sont droits, d'autres sont régulièrement ondulés. Puis quelques-uns, appartenant aussi bien au mycélium végétatif qu'au mycélium aérien, se divisent spontanément en petits segments de dimensions variables. Ces arthrospores restent d'abord alignées (fig. 2), puis subissent un léger déplacement les uns par rapport aux autres et prennent une disposition en zig-zag très caractéristique. Cette fragmentation commence à l'extrémité antérieure du filament et s'étend souvent jusqu'à son point d'insertion sur le filament principal. A un stade plus avancé du développement, les zig-zag s'accroissent (fig. 3-4), les bâtonnets peuvent glisser les uns par rapport aux autres. Au centre des colonies âgées, on voit un amas de bâtonnets diversement groupés, dans lequel on a peine à reconnaître la disposition primitive. Souvent, plusieurs filaments serrés, parallèles, se fragmentent et donnent des bâtonnets groupés par 3 ou 4 ; leur groupement ressemble tout à fait à un étalement de bacilles sur lame. Ces arthrospores sont inégales : elles mesurent de $0\ \mu$, 4 à $0\ \mu$, 8. Jeunes, elles sont grêles, à extrémités carrées. Lorsqu'elles sont nettement séparées les unes des autres, elles deviennent plus trapues et leurs extrémités s'arrondissent (pl. hors-texte, fig. 4).

Filaments et arthrospores prennent le Gram ; ils ne sont ni alcooliques, ni acido-résistants.

La formation des arthrospores, telle que nous venons de la décrire, est facilement observable par la méthode des cultures sur lames. Au contraire, l'examen d'une préparation obtenue suivant les procédés habituels de dilacération ne montre qu'un mélange de filaments, de bâtonnets courts, de spores ovales, et n'apporte aucun renseignement sur les différents stades de formation de ces éléments. L'aspect morphologique des arthrospores, *Geotrichum* et *Trichosporum* en particulier, qui donnent des arthrospores en zig-zag, est tout à fait le même, dimensions mises à part, que celui de cet *Actinomyces*. C'est d'ailleurs là un phénomène de convergence, qui est loin d'être unique dans la nature.

Nous n'avons jamais vu cet *Actinomyces* former des endospores comme les espèces précédentes : il en est par conséquent très nettement distinct. On peut déduire de cette observation qu'on a groupé, sous le nom d'*Actinomyces*, des champignons assez différents, les uns uniquement endospores, les autres uniquement arthrospores. Nous insistons sur ce point qui permet une distinction morphologique entre certains groupes d'*Actinomyces*.

POSITION SYSTÉMATIQUE. — Dans la classification de Foulerton, cette souche se range parmi les Minores. Elle appartient aussi au groupe II a, de la classification d'Orskov. Nous n'avons pu la rapporter à aucune espèce déjà existante. Nous l'avons nommée *Actinomyces Langeroni*, la dédiant à M. le Dr Langeron qui nous guida et nous conseilla avec tant de bienveillance au cours de ce travail.

ACTINOMYCES LANGERONI

Cultura non pulverulenta, sine colore ; filamentis parum divisis, 0 μ , 3-0 μ , 5 ; arthrosporis 0 μ , 4-0 μ , 8.

CHAPITRE V

ACCIDENTS VACCINAUX ET POUVOIR PATHOGÈNE DES CHAMPIGNONS ÉTUDIÉS

La présence de germes adventices mélangés au vaccin soulève la question du pouvoir pathogène de ces germes.

Les bactéries trouvées dans le vaccin ont fait l'objet de recherches plus nombreuses que les champignons. Les auteurs de ces recherches sont d'ailleurs loin d'être d'accord sur leur rôle pathogène. Sacquépée, en 1896, étudie d'une façon systématique la flore bactérienne de plusieurs vaccins de l'Institut de Lyon ; il n'y trouve aucune souche dangereuse. En Suède, à la suite de l'épidémie de Malmö, en 1932, des recherches sont faites sur les staphylocoques existant dans le vaccin antivariolique. M. H. Magnusson leur attribue les complications et les vives réactions observées. Le docteur H. Davide, au contraire, prétend qu'ils ne jouent aucun rôle pathogène dans la lymphe. Au cours de ses expériences, 42 % des souches se montrent pathogènes chez le lapin par voie intraveineuse, mais aucune ne donne de réaction locale ou générale par voie cutanée. De plus, après un contact prolongé avec la glycérine, les microbes ne présentent plus de virulence pour le lapin.

On trouve peu de travaux dans la littérature sur les champignons de la vaccine. En 1898, Sabrazes et Joly rapportent la présence d'un *Streptothrix* (*Actinomyces*) dans la pulpe fraîche. Après contact prolongé avec partie égale de glycérine, la culture du champignon n'a plus été positive que 6 fois sur 43. Plusieurs fois encore la présence d'*Actinomyces* blancs est mentionnée, sans qu'il soit question de rôle pathogène.

En 1887, en Prusse, se développe une épidémie d'impétigo contagiosa post-vaccinal. Les recherches du Dr Protze montrent que cette épidémie est imputable au *Trichophyton tonsurans*, retrouvé dans les produits de grattage des pustules vaccinales.

En 1910, Camille Bidault rapporte une dermatose qui s'est développée chez une cinquantaine de soldats vaccinés en même temps. Il attribue cette dermatose au *Trichophyton asteroides*, qui est retrouvé dans les squames.

En résumé, les champignons semblent rarement la cause d'accidents vaccinaux.

Cependant il nous a semblé intéressant de vérifier si les souches étudiées au cours de ce travail n'étaient pas pathogènes. A ce point de vue, nous avons fait un essai systématique de toutes nos souches, même de celles qui pouvaient paraître *a priori* tout à fait anodines. Cette vérification était plus spécialement utile pour les *Scopulariopsis* et les *Actinomyces*. On commence en effet à entrevoir le rôle pathogène des *Scopulariopsis*. Certains, d'après Ota et Kawatsure, peuvent être comptés parmi les agents de la blastomycose américaine ou maladie de Gilchrist ; d'autres sont rendus responsables d'onychomycoses. Les *Actinomyces*, étudiés depuis plus longtemps, qu'on accuse aussi de nombreux méfaits, méritaient également d'être essayés au point de vue d'un pouvoir pathogène possible.

La technique suivie est la suivante : pour chaque champignon, nous émulsionnons dans du sérum physiologique une culture fraîche et bien développée, puis nous injectons à un cobaye 1 cc. de l'émulsion sous la peau de la face interne de la cuisse. Après l'injection, les animaux restent 1 mois 1/2 en observation ; chaque jour nous prenons le poids et la température.

Essai des *Penicillium*

SOUCHE 217 : *PENICILLIUM CITREO-SULFURATUM*

Date	Poids	Température
	grammes	
1 ^{er} avril	345	38°,6
2 »	350	38°,2
4 »	350	38°,2
6 »	360	38°,4
8 »	365	38°,4
12 »	360	38°,2
16 »	350	37°,9
20 »	345	37°,9
24 »	340	38°
28 »	345	37°,9
2 mai	335	37°,9
6 »	330	38°,1
10 »	335	37°,9

Injection de 1 cc. d'émulsion au cobaye n° 217, le 1^{er} avril.

L'injection ne donne lieu à aucune réaction. Au point d'inoculation, il ne se produit ni abcès, ni nodule. L'état général demeure bon. La légère perte de poids est due probablement au fait que le cobaye a été transporté dans un lieu plus froid.

Conclusion. — Cette souche ne s'est donc pas montrée pathogène, en injection sous-cutanée, pour le cobaye en expérience.

SOUCHE 911 : *PENICILLIUM FREQUENTANS*

Date	Poids	Température
	grammes	
28 mars	500	37°,65
29 »	475	37°,8
30 »	460	37°,6
1 avril	465	37°,6
3 »	450	37°,9
5 »	445	38°,1
9 »	450	37°,8
21 »	440	37°,6
25 »	425	38°
27 »	420	37°,6
29 »	400	37°,8
1 mai	360	37°,6
3 »	335	mort

28 mars : 1 cc. d'émulsion est injecté au cobaye 911.

Le 31 mars, on sent un petit nodule au point d'injection, mais il se résorbe rapidement et a totalement disparu le 4 avril.

Du 9 au 21 avril, le poids oscille entre 430 et 440 grammes, et la température entre 38° et 37°,8. L'animal meurt le 3 mai.

L'autopsie ne montre rien d'anormal au point d'injection. La rate, les reins, l'intestin sont normaux. Le foie a une teinte un peu foncée. Mais les poumons sont très altérés ; certaines parties sont fortement congestionnées, d'autres sont très pâles. Le cobaye est mort d'une affection pulmonaire.

Conclusion. — La mort de l'animal ne semble pas due à l'injection. Celle-ci a seulement donné lieu à un petit nodule rapidement résorbé.

Souche 9112 : CITROMYCES RAMOSUS

Date	Poids	Température
	grammes	
28 mars	390	38°,3
29 »	400	38°,1
31 »	405	38°,2
16 avril.....	415	38°,2
20 »	410	37°,8
24 »	410	37°,7
28 »	405	37°,7
2 mai	400	37°,8
6 »	410	37°,9
10 »	415	38°
12 »	415	38°

Le 28 mars, injection de 1 cc. d'émulsion au cobaye 9112.

L'injection ne donne lieu à aucune réaction au point d'inoculation. L'état général demeure bon. Du 31 mars au 16 avril, le poids oscille entre 405 et 415 ; la température entre 38°,2 et 38°. Dans l'ensemble, le poids augmente.

Conclusion. — Résultat entièrement négatif.

SOUCHE 148 : *PENICILLIUM LUTEUM*

Date	Poids	Température
	grammes	
28 mars	548	38°
29 »	535	38°
31 »	545	37°,8
11 avril	600	37°,6
20 »	620	38°,2
24 »	630	37°,9
28 »	640	37°,9
2 mai	640	37°,8
6 »	650	37°,9
10 »	650	37°,9
12 »	650	38°

Injection sous-cutanée de 1 cc. d'émulsion au cobaye 148, le 28 mars. Deux jours après, le lieu d'inoculation est légèrement rouge, mais cette congestion disparaît rapidement. Après un léger amaigrissement, le cobaye reprend du poids: du 31 mars au 11 avril, il s'élève progressivement jusqu'à 600 grammes. Un mois 1/2 après l'injection, le poids a augmenté de 100 grammes.

Conclusion : Résultat négatif.

SOUCHE 1113 : *PENICILLIUM LANOSUM*

Date	Poids	Température
	grammes	
1 avril	510	38°,2
2 »	500	38°
4 »	505	37°,8
6 »	510	37°,9
20 »	545	38°,2
24 »	545	37° 9
30 »	540	38°
3 mai	535	37°,8
7 »	540	38°
11 »	550	37°,9
14 »	560	38°
16 »	560	37°,9

Le 1^{er} avril, injection de 1 cc. d'émulsion au cobaye 1113 P.
Aucune réaction au point d'inoculation. Bon état général. Après

un léger amaigrissement, l'animal reprend du poids et pèse davantage à la fin de l'expérience qu'au moment de l'injection.

Conclusion : Résultat négatif.

SOUCHE 31 : *PENICILLIUM COMMUNE*

Date	Poids	Température
	grammes	
1 avril.....	520	37°,5
2 »	510	37°,6
3, »	520	37°,4
6 »	510	37°,6
28 »	530	37°,7
1 mai	535	37°,8
5 »	540	37°,8
9 »	540	37°,7
13 »	545	37°,9
15 »	550	38°

Injection de 1 cc. d'émulsion, le 1^{er} avril, au cobaye 31. Le 5, on sent un petit nodule au point d'injection ; il se résorbe en 3 jours. L'animal maigrit d'abord, puis reprend du poids. Du 6 au 28 avril, son poids oscille entre 510 et 530 grammes et sa température entre 37°,5 et 37°,9. Un mois 1/2 après l'injection, on ne voit rien au point d'inoculation et le poids est supérieur au poids initial.

Conclusion. — L'injection provoque un léger nodule rapidement résorbé, l'état général demeure bon.

Essai des *Scopulariopsis*

SOUCHE 1113 : *SCOPULARIOPSIS BREVICAULIS* VAR. *GLABRA*

Date	Poids	Température
	grammes	
1 avril.....	360	38°,6
2 »	365	38°,7
4 »	370	38°,7
26 »	380	38°,5
30 »	385	38°,3
3 mai	375	38°,2
7 »	385	37°,9
11 »	385	38°
13 »	385	38°
16 »	380	37°,9

Le 1^{er} avril, injection de 1 cc. d'émulsion au cobaye 1113 S. Le 4, le point d'inoculation est un peu rouge et présente un petit nodule ; celui-ci disparaît le 10. L'état général demeure bon ; le cobaye ne présente aucun amaigrissement. Du 4 avril au 26, son poids oscille entre 370 et 380 ; à la fin de l'observation, il est supérieur au poids initial.

Conclusion : L'injection provoque un nodule disparaissant en quelques jours, sans atteinte de l'état général.

SOUCHE 9090 : ACAULIUM NIGRUM

Date	Poids	Température
	grammes	
29 mars	360	39°
30 »	355	38° 9
1 avril	360	38° 6
12 »	355	38° 4
16 »	345	37° 9
20 »	340	37° 9
26 »	330	37° 8
30 »	325	37° 7
3 mai	330	37° 6
6 »	325	37° 8
10 »	330	37° 9
14 »	330	37° 8

Le 29 mars, injection de 1 cc. d'émulsion. Le 1^{er} avril, le point d'inoculation est un peu rouge et induré, puis l'aspect redevient normal au bout de 4 jours. Le cobaye présente un amaigrissement surtout marqué un mois après l'injection, mais il reste stationnaire par la suite et son état général est bon.

Conclusion. L'induration au point d'inoculation disparaît rapidement. L'amaigrissement tardif n'est probablement pas imputable à l'injection. L'état général est bon.

SOUCHE 242 : ACAULIUM NIGRUM, VAR. GLABRUM

Date	Poids	Température
	grammes	
28 mars	540	38°,4
29 »	550	37°,9
1 avril	560	38°
3 »	550	38°,2
25 »	565	37°,9
29 »	550	37°,7
1 mai	540	38°
5 »	535	37°,8
9 »	550	37°,9
13 »	555	38°,1

Injection sous-cutanée de 1 cc. d'émulsion, le 28 mars. Rien d'anormal ne se produit au point d'inoculation. L'état général de l'animal reste bon. Du 3 au 25 avril, le poids varie entre 550 et 565. Légère augmentation sur le poids initial.

Conclusion : Résultat entièrement négatif.

SOUCHE 243 : ACAULIUM NIGRUM, VAR. GLABRUM

Date	Poids	Température
	grammes	
29 mars	650	38°,8
30 »	654	38°,9
31 »	655	38°,8
2 avril	660	38°,9
25 »	660	38°,7
29 »	670	38°,4
3 mai	655	37°,9
7 »	665	38°
12 »	680	37°,9

29 mars : on injecte 1 cc. d'émulsion.

31 mars : le point d'inoculation est rouge et induré.

5 avril : l'induration disparaît. L'état général est bon. Après un léger amaigrissement, le poids augmente jusqu'à dépasser le poids initial.

Conclusion : Nodule disparaissant en quelques jours, état général bon.

SOUÛHE 912 : SCOPULARIOPSIS BRUMPTII

Date	Poids	Température
	grammes	
1 avril.....	510	37°
2 ".....	520	37° 5
3 ".....	510	37° 2
5 ".....	495	37°
7 ".....	480	37° 3
11 ".....	495	37° 2
2 mai.....	510	37° 3
6 ".....	490	37°
10 ".....	530	37° 5
14 ".....	510	37° 5
16 ".....	510	37° 8

Deux jours après l'injection, on constate un petit nodule au point d'inoculation. Il disparaît rapidement ; le 7 avril, on ne sent plus rien. L'état général demeure bon, le poids reste sensiblement le même du 11 avril au 2 mai et oscille entre 495 et 510 grammes. Le poids final est égal au poids initial.

Conclusion : Petit nodule évoluant en quelques jours vers la guérison. Etat général bon.

SOUÛHE 8740 : SCOPULARIOPSIS VERSICOLOR

Date	Poids	Température
	grammes	
1 avril.....	495	37° 6
2 ".....	500	37° 8
4 ".....	500	37° 5
6 ".....	480	37°
30 ".....	495	37° 8
2 mai.....	480	37° 5
6 ".....	470	37° 9
10 ".....	490	37° 8
14 ".....	500	37° 9
16 ".....	500	38°

Le 3^e jour après l'injection, léger nodule au point d'inoculation ; il disparaît 3 jours après. Bon état général. Poids sensiblement stationnaire pendant toute la durée de l'observation.

Conclusion : Petit nodule rapidement résorbé. Bon état général.

Essai des Actinomyces

SOUCHE 9068 : ACTINOMYCES ALBUS

Date	Poids	Température
	grammes	
2 avril.....	590	38°,7
3 »	560	38°,6
4 »	550	38°,3
6 »	560	38°
28 »	570	37°,8
1 mai	580	37°,6
4 »	590	38°
8 »	575	37°,9
12 »	590	38°
14 »	595	38°,1
16 »	600	38°

Trois jours après l'injection, on sent au point d'inoculation une légère induration et un ganglion. Le 10 avril, tout est redevenu normal. L'état général est bon. Du 6 au 28 avril, le poids oscille entre 550 et 570 grammes, la température entre 38° et 37°,6. Léger amaigrissement au début, puis poids stationnaire.

Conclusion : L'induration disparaît assez vite. L'amaigrissement est passager. L'état général est bon.

SOUCHE A : ACTINOMYCES ALBUS

Date	Poids	Température
	grammes	
2 avril.....	395	38°,7
3 »	380	38°,5
4 »	375	38°,2
6 »	360	38°
8 »	350	37°,9
10 »	330	37°,6
2 mai	350	37°,5
6 »	360	37°,8
10 »	350	37°,7
14 »	350	37°,9
16 »	355	38°

2 avril : injection de 1 cc. d'émulsion. Le point d'inoculation est légèrement induré le 6 avril. Le 10, l'induration disparaît. Du

10 avril au 2 mai, le poids oscille entre 330 et 350, la température entre 37°,5, et 37°,9. Après un fléchissement, le poids se maintient aux environs de 350 grammes et l'état général est bon.

Conclusion : Le nodule provoqué par l'injection disparaît rapidement. L'animal a maigri, mais dans l'ensemble l'état général est bon.

SOUCHES 9090 : ACTINOMYCES ALBUS

Date	Poids	Température
	grammes	
2 avril.....	300	38°
3 »	295	37°,8
4 »	280	37°,7
5 »	290	37°,9
28 »	310	37°,8
1 mai	315	37°,9
6 »	310	38°
10 »	320	38°,1
14 »	315	38°,1
16 »	320	37°,9

L'injection ne donne lieu à aucune réaction locale. Le cobaye, après avoir maigri quelques jours, reprend du poids. son état général est bon. Du 5 au 28 avril, son poids reste entre 290 et 310 grammes. Après un mois et demi, le poids initial est dépassé.

Conclusion : Après un léger fléchissement, le poids augmente, l'état général est bon.

SOUCHES 915 : ACTINOMYCES ALBUS

Date	Poids	Température
	grammes	
28 mars	290	38°,3
29 »	310	38°,7
31 »	315	38°,6
2 avril.....	310	37°,9
25 »	290	37°,7
29 »	300	37°,5
3 mai	300	37°,8
7 »	290	38°
11 »	300	38°,1
14 »	310	38°
16 »	315	37°,9

La résorption de l'émulsion injectée s'est faite sans induration au point d'inoculation. L'état général est bon. Du 2 au 25 avril, le poids oscille entre 310 et 290 grammes. A la fin de l'observation, le poids du cobaye est un peu supérieur au poids initial.

Conclusion Résultat entièrement négatif.

SOUCHE 912 : ACTINOMYCES ALBUS

Date	Poids	Température
	grammes	
1 avril.....	610	37°,8
2 »	610	37°,7
4 »	590	37°,9
6 »	605	38°
29 »	640	37°,9
2 mai	650	38°
6 »	660	38°,1
10 »	655	37°,8
14 »	665	38°
16 »	660	38°

Aucune réaction au point d'injection. Du 6 au 29 avril, le poids varie entre 600 et 640 grammes, la température entre 37°,7 et 38°. Bon état général. Poids final supérieur au poids initial.

Conclusion : Léger fléchissement du poids, suivi de reprise, bon état général.

SOUCHE 1113 : ACTINOMYCES VIRIDIS

Date	Poids	Température
	grammes	
1 avril.....	520	38°,4
2 »	500	38°,1
3 »	490	38°,1
4 »	500	38°
25 »	520	37°,9
29 »	535	37°,7
2 mai	540	37°,8
6 »	525	38°
10 »	545	37°,7
14 »	550	37°,8
16 »	555	37°,9

Aucune réaction locale. Du 4 au 25 avril, le poids est compris entre 490 et 520 grammes ; la température entre 38°,1 et 37°,8. Bon état général ; à partir du 25 avril, le cobaye dépasse son poids initial.

Conclusion : Léger amaigrissement suivi de reprise du poids. Bon état général.

Souche 7/6 B : ACTINOMYCES ALBUS ET VIRIDIS

Date	Poids	Température
	grammes	
2 avril.....	490	38°,8
3 »	470	38°,6
4 »	455	38°
6 »	460	38°,2
28 »	480	37°,9
2 mai	485	37°,9
6 »	485	37°,7
10 »	495	38°
14 »	500	38°
16 »	500	37°,9

Quatre jours après l'injection, on sent un assez gros nodule au point d'inoculation. Puis il diminue pour disparaître le 15. Le cobaye, qui a commencé par maigrir, reprend du poids. Du 6 au 28 avril, il pèse entre 460 et 480 grammes ; sa température est entre 38°,2 et 37°,8.

Conclusion : Le nodule évolue vers la guérison, sans former d'abcès. Après un amaigrissement passager, l'animal reprend du poids. L'état général est bon.

Souche 911 : ACTINOMYCES ALMQUISTI

Date	Poids	Température
	grammes	
1 avril.....	520	37°,4
2 »	510	37°,7
3 »	500	37°,5
5 »	490	37°,9
7 »	510	37°,8
29 »	540	37°,7
1 mai	550	37°,9
6 »	560	37°,9
10 »	570	38°
14 »	575	37°,8
16 »	575	38°

Le 3^e jour après l'injection, on constate, au point d'inoculation, un léger nodule, qui disparaît très vite. Après avoir maigri les premiers jours, l'animal engraisse et dépasse son poids primitif. Du 5 au 29 avril, il oscille entre 510 et 540 grammes. La température se maintient entre 37°,7 et 37°,9. L'état général est bon.

Conclusion : Léger nodule disparaissant rapidement, amaigrissement passager. Bon état général.

SOUCHE 921 : ACTINOMYCES LANGERONI

Date	Poids	Température
	grammes	
7 avril.....	535	39°,2
8 »	495	38°,5
10 »	480	38°,9
14 »	460	38°,2
18 »	440	37°,9
22 »	435	38°
24 »	445	37°,8
26 »	430	37°,9
28 »	425	37°,8
30 »	390	mort

Le 7 avril, injection de 1 cc. d'émulsion au cobaye 921. Le 13, on sent un petit nodule au point d'inoculation ; il se résorbe en quelques jours et disparaît totalement le 18. L'animal maigrit d'une façon constante et meurt le 30 avril.

L'autopsie ne montre aucune lésion au point d'injection. La rate, non augmentée de volume, paraît normale. Le foie, de teinte et de taille normales, est parsemé de petits nodules blanchâtres. Les poumons sont hémorragiques ; le poumon droit est semé de plusieurs nodules blanchâtres ; le poumon gauche, simplement congestionné, n'en présente pas. Tout le long de l'intestin, se voient de gros paquets de ganglions mésentériques purulents. On constate encore un gros paquet de ganglions trachéobronchiques purulents.

Le pus d'un ganglion, après coloration au Gram, montre uniquement de très nombreux leucocytes peu altérés et quelques cocci Gram négatif. Aucun élément mycélien, aucune massue. Le produit de grattage de la paroi d'un ganglion, coloré au Ziehl, n'a pas montré de bacilles de Koch.

Le pus d'un ganglion prélevé aseptiquement est ensemencé sur 3 tubes de gélose inclinée. Après 36 heures à l'étuve à 37°, il se développe de petites colonies de cocci Gram négatif. *L. Actinomyces* ne pousse pas après plusieurs jours de séjour à l'étuve.

D'autre part, le 30 avril, on injecte 1/2 cc. d'une émulsion du pus d'un ganglion dans du sérum physiologique sous la peau de la face interne de la cuisse d'un cobaye n° 1. Le 5 mai, le point d'inoculation est rouge et induré. Le 10, il s'est formé un petit abcès, qui s'ouvre spontanément le 18. L'examen du pus montre des cocci ne prenant pas le Gram. L'abcès évolue vers la guérison, le 24 il est cicatrisé. Le poids de l'animal s'élève à 625 grammes le 30 avril, à 700 grammes le 24 mai.

Nous injectons encore à 2 nouveaux cobayes, n° 2 et 3, sous la peau de la cuisse, 1 cc. d'émulsion de la souche 921 dans du sérum physiologique.

Cobaye n° 2

Date	Poids	Température
	grammes	
30 avril.....	525	38° 1
1 mai.....	525	38°
3 ".....	530	37° 9
5 ".....	560	38°
.....		
17 ".....	615	37° 9
22 ".....	610	37° 7
24 ".....	610	37° 8

Le 30 avril, injection. Le 6 mai, on constate un petit nodule au point d'inoculation, nodule qui disparaît spontanément 4 jours après. L'animal ne présente pas d'amaigrissement, son poids s'élève de 525 grammes à 610 grammes.

Nous sacrifions ce cobaye le 24 mai. L'autopsie ne révèle aucune altération : pas de lésion au point d'inoculation ; les poumons, le foie, la rate sont normaux. On ne voit ni ganglions mésentériques, ni ganglions trachéobronchiques purulents.

Cobaye n° 3

Date	Poids	Température
	grammes	
30 avril.....	460	37°,6
1 mai.....	450	37°,7
3 ».....	510	37°,8
7 ».....	520	37°,5
10 ».....	500	37°,7
.....		
22 ».....	585	37°,7
24 ».....	580	37°,9

Le 30 avril, injection de 1 cc. d'émulsion. Le 4 mai, on sent un petit nodule, qui disparaît le 7. Le poids de l'animal subit un très léger fléchissement, puis très rapidement dépasse sa valeur initiale. L'état général reste bon.

Conclusion : Il résulte de ces expériences que la mort du 1^{er} cobaye est liée à une affection accidentelle, sans rapport avec l'*Actinomyces*, puisque celui-ci n'a pu être retrouvé dans les lésions ni par la culture, ni par l'inoculation. D'autre part, les deux nouvelles injections de la même souche 921 aux cobayes 2 et 3 n'ont donné lieu qu'à un petit nodule, évoluant spontanément vers la guérison. L'état général est demeuré bon.

Nous avons cherché si, en associant cette souche au vaccin anti-variolique, nous ne pourrions mettre en évidence une action pathogène. Dans ce but, nous avons opéré comme pour l'essai de l'activité du vaccin, mais en diluant le vaccin dans une émulsion de la souche 921. Nous avons inoculé par scarifications superficielles la peau rasée d'un cobaye. 3 plages ont été inoculées avec du vaccin dilué au 1/100, 1/1.000, et 1/10.000 dans du sérum physiologique glycérociné au 1/2. 3 autres plages ont été inoculées avec du vaccin dilué au 1/100, 1/1.000, 1/10.000 dans l'émulsion de la souche d'*Actinomyces*. Nous avons aussi fait une piqûre sur chaque narine avec le vaccin dilué au 1/100 dans les deux excipients. Le 5^e jour de l'inoculation, on constate les faits suivants : l'épaississement de la peau est plus marqué du côté vacciné avec la dilution contenant l'*Actinomyces* ; la piqûre pratiquée sur la muqueuse nasale a donné une pustule plus volumineuse du côté du vaccin souillé que de l'autre.

Conclusion : Cette expérience ne montre pas non plus d'action

pathogène de la part de l'*Actinomyces*. Tout au plus peut-on dire que les réactions vaccinales ont été un peu plus vives avec l'émulsion d'*Actinomyces*.

En résumé. — Presque toutes les souches d'*Actinomyces* injectées par voie sous-cutanée ont provoqué une induration disparaissant en quelques jours et un amaigrissement passager, sans que l'état général paraisse atteint.

Nos recherches s'accordent avec celles des auteurs qui rendent rarement les champignons responsables des accidents vaccinaux. Malgré ces constatations rassurantes, il convient cependant de tenter de débarrasser le vaccin de ces germes adventices très résistants.

CONCLUSIONS

Les recherches poursuivies au cours de ce travail conduisent aux résultats suivants :

1^o Les champignons identifiés appartiennent aux trois genres : *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Actinomyces*.

2^o Les *Penicillium* sont des espèces banales. On a trouvé trois monoverticillés, un biverticillé symétrique et deux laineux. (Classification de Thom 1930).

3^o Parmi les *Scopulariopsis*, deux souches morphologiquement semblables, ne diffèrent de l'*Acaulium nigrum* Sopp que par leurs spores lisses. Nous en avons fait l'*Acaulium nigrum* variété *glabrum*. Nous avons caractérisé deux espèces nouvelles à petites spores, auxquelles nous avons donné les noms de *Scopulariopsis Brumptii* et *Scopulariopsis versicolor*.

4^o Les *Actinomyces*, à l'exception d'un seul, appartiennent au groupe *Albus*. Cinq sont des *Actinomyces albus* vrais ; une souche est un mélange d'*Actinomyces albus* type et d'*Actinomyces viridis*. Les deux autres souches appartiennent à l'*Actinomyces viridis* et à l'*Actinomyces Almquisti*. Enfin un *Actinomyces* se rattache au groupe des *Minores* ; nous l'avons nommé *Actinomyces Langeroni*.

5^o Le vaccin antivariolique étant un milieu glyciné, nous avons recherché la résistance de nos souches à la glycérine. Pour toutes, les cultures ont été positives après un mois de contact avec la glycérine au 1/4. Les *Actinomyces albus* ont poussé après un mois et demi de contact avec la glycérine pure. Après le même traitement, les *Penicillium* et les *Scopulariopsis* ne se sont pas développés.

6^o Ces champignons pouvant être inoculés à l'organisme humain en même temps que le vaccin, nous avons étudié

l'influence de la température sur leur développement. Parmi les *Penicillium*, seuls le *Penicillium lanosum* et le *Penicillium commune* ne poussent pas à 37°. Parmi les *Scopulariopsis*, l'*Acaulium nigrum*, sa variété *glabrum*, et le *Scopulariopsis versicolor* ne se développent pas à 37°. Tous les *Actinomyces* sont thermophiles et poussent très bien à 37°.

7° Etant donné le mélange de ces champignons au virus vaccinal, il nous a paru intéressant de vérifier s'ils étaient exempts ou non de pouvoir pathogène. Les inoculations, que nous avons pratiquées chez le cobaye, sont restées négatives. Dans quelques expériences, en particulier dans celles concernant les *Actinomyces*, nous avons cependant obtenu localement un petit nodule qui se résorbe en quelques jours, et un amaigrissement passager.

Vu : Le Doyen,
P. GUÉRIN.

Vu : le Président de Thèse,
L. LUTZ.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S: CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

- ALIVISATOS (C. N.). — Un grand initiateur hellène de la vaccination au XVIII^e siècle : Jacques Pylarino. *Presse médicale*, 24 décembre 1930.
- BAINIER (G.) et SARTORY (A.). — Nouvelles recherches sur les *Citromyces*. *Bull. Soc. mycologie France*, XXIX, 1913, p. 137-161.
- BIDAULT (C.). — Trichophytie cutanée occasionnée par le vaccin de génisse. J. B. Baillière, Paris, 1911.
- BIOURGE (Ph.). — Les moisissures du groupe *Penicillium* Link. *La cellule*, XXXIII, 1^{er} fasc., 1923.
- BROCC-ROUSSEAU (D.). — Recherches sur les altérations des grains de céréales et des fourrages. *Th. sciences, Paris*, 1907.
- BRUMPT (E.). — Précis de parasitologie, 4^e éd., Masson et C^{ie}, 1927.
- BUTLER (G.-G.) et STEVENSON (W. D. H.). — Lymphé vaccinale d'origine dermique, exempte de bactéries, obtenue sur l'allantochoion de l'embryon de poulet. *Off. international d'hyg. publ.*, XXVI, 1934, p. 64-73.
- CAMUS (L.). — Détermination de la quantité de glycérine dans le vaccin jennérien. *C. R. Biologie*, LXIII, 1907, p. 211.
- CAMUS (L.). — De l'utilisation des basses températures dans les instituts vaccino-gènes. *Journ. Physiol. pathol. gén.*, mai 1911.
- CAMUS (L.). — De l'emploi des anesthésiques pour la purification des vaccins. *C. R. Soc. Biologie*, LXXV, 1913, p. 696.
- CAMUS (L.). — La vaccine à l'Académie de Médecine (*Bull. Acad. Méd.*, LXXXIV, 1920, p. 463-499).
- CAMUS (L.). — Jenner et la Vaccine. *Bull. Acad. Méd.*, LXXXIX, 1923 p. 89-165.
- CAMUS (L.). — Le vaccin. *Cours d'hyg. Fac. méd.*, Masson et C^{ie}, 1927.
- CHALMERS (A.-J.), CHRISTOPHERSON (J.-B.). — A Sudanese actinomyces. *Annals tropical med. and parasitol.*, X, 1916, p. 223-282.
- CURZI (M.). — Una nuova specie di « microascus ». *Bull. R. stazione di patholog. vegetale Roma*, 1930.
- CURZI (M.). — Rapporti fra i generi « *Microascus* Zukal » e « *Scopulariopsis Bainier* ». *Boll. R. stazione di patholog. vegetale Roma*, 1931.
- DAVIDE (H.). — Recherches sur la nature des staphylocoques existant dans le vaccin antivariolique et leur influence sur l'évolution de la pustule vaccinale. *Off. international d'Hyg. publ.*, XXV, 1932, p. 626-635.
- DERNBY (K. G.), NÄSLUND (C.). — Untersuchungen über einige physio-

- logische Eigenschaften der Starhlenpilze. *Biochem. Zeitschr.*, CXXXVIII, 1923, p. 497.
- DUCHÉ (J.). — Action de l'éther et du chloroforme sur les *Actinomyces* du groupe *Asteroides*. *C. R. Ac. Sc.*, CXCIV, 1932, p. 1509.
- DUCHÉ (J.). — De l'obtention de clones à propriétés fixes chez les *Actinomyces*. *C. R. Acad. Sc.*, CXCVI, 1933, p. 128.
- DUCHÉ (J.). — Les *Actinomyces* du groupe albus. *Thèse Sciences*, Paris, 1934.
- EMMONS (C. W.), DODGE (B. O.). — The ascospore stage of species of *Scopulariopsis*. *Mycologia*, XXIII, 1931, p. 313-331.
- FOULERTON (A. G. R.). — *The streptotrichose and tuberculosis*. London, edit. James Nisbet et Co, 1910.
- GILDEMEISTER (E.), HELM (R.). — Ueber das Vorkommen des virus der Maul und Klauenseuche in pockenlymphe. *Zentralb. f. Bakteriol.*, CXXIII, 1932, p. 294.
- GOMES (J. M.). — Abscesso produzido por *Actinomyces Annaes paulistas de med. e cir.*, XXI, 1930, p. 1-5.
- GRIGORAKIS (L.). — Morphologie et cytologie des *Actinomyces*. *C. R. Ac. Sc.*, CXCIII, 1931, p. 540-543.
- GRIGORAKIS (L.). — Morphologie et cycle évolutif des *Actinomyces*. *C. R. Ac. Sc.*, CXCIV, 1932, p. 641-643.
- HENRICI (A.-T.). — *Molds, Yeasts and Actinomyces*, New York, edit. John Wiley and Sons, 1930.
- HOWARD (W.-T.). — A study of *Actinomyces* cultivated from commercial vaccine virus. *Journ. medic. research*, X, 1904, p. 493-513.
- JANNIN (L.). — Mycoses gommeuses à *Scopulariopsis Koningi*. *Arch. Parasit.*, XV, 1912, p. 478-489.
- JENSEN (H.). — *Actinomyces* in danish soil. *Soil sci. soc.*, XXX, 1930, p. 59-77.
- KELSCH-CAMUS-TANON. — Pulpes vaccinales et basses températures. *Bull. Acad. Méd.*, LXIV, 1910, p. 55-69.
- LANGERON (M.). — *Précis de microscopie*, 5^e édit., Paris, Masson et Co, 1934.
- LANGERON (M.) et MILOCHENITCH (S.). — Morphologie des dermatophytes. *Ann. parasitol.*, VIII, 1930, p. 422-508.
- LEHMANN (K.-B.), NEUMANN (R.-O.). — *Manuel de bactériologie*, Baillière, 1913.
- LIOT (L.). — Vaccinothérapie et vaccin jennérien. *Pharmacie franç.*, juillet 1932, p. 157-168.
- LOUBIÈRE (A.). — Recherches sur quelques mucédinées caséicoles. *Thèse Sciences*, Paris, 1924.
- ORSKOV (J.). — *Investigations into the morphology of the ray fungi*. Copenhagen, édit. Levin et Munksgaard, 1923.
- OTA (M.), KAWASCHKE (S.-H.). — Zur Actiologie der echten und falschen, Blastomykosen, besonders der Gilchristsehen Krankheit. *Arch. f. Dermatol. u. Syphilis*, 1933, p. 149-172.
- PERRON. — Impétigo d'origine vaccinale. *Bull. med.*, 11 nov. 1888.

- POPOVA (N.-N.), BELENKY (D.-E.). — Die diphteroiden stäbchen der pockenlymphe und ihre beziehungen zunden diphterie bazillen. *Zentralbl. f. Bakteriolog.*, CXVIII, 1930, p. 435.
- POURQUIER. — Accidents cutanés après la vaccination animale. *Rev. d'Hyg. et police Sanit.*, nov. 1888.
- PUNTONI (V.). — Pluralita specifica dell *Actinomyces bovis*. *Ann. d'igiene*, XLI, fasc. Ier, 1931, Roma.
- RIVALIER. — Accidents de la vaccination. Vaccine généralisée. *La médecine* déc. 1926.
- SABRAZÈS et JOLY. — Sur un *Streptothrix* fréquemment isolé du vaccin de génisse. *C. R. Soc. biologie*, XXXV, 1898, p. 134.
- SACCARDO (P.-A.). — *Sylloge fungorum*.
- SACQUEPÉE. — Etude sur la flore bactérienne du vaccin. *Th. méd.* Lyon, 1896.
- SARTORY (A.), BAILLY (A.). — *Les mycoses pulmonaires et leurs parasites*. Paris, édit. clinique et Laborat., 1923.
- SARTORY (A.), SARTORY (R.). — Deux cas d'oosporoses pulmonaires guéries, provoquées par un champignon du genre *Actinomyces* (Oospora). *Bull. Acad. Méd.*, XCIV, 1925, p. 893.
- SOPP (O.-J.-G.). — *Monographie der Pilzgruppe Penicillium*. Kristiania, édit. Jacob Dybwad, 1912.
- THOM (Ch.). — *The Penicillia*. London, édit. Baillière, Tindall and Cox, 1930.
- THOMAS. — De quelques accidents consécutifs à la vaccine. *Th. méd.*, Lyon, 1890.
- TRIUS (M.), POLITOWA (E.). — Zur Biologie des Erregers der Strahlenpilzkrankheit. *Zentralbl. f. Bakteriolog.* CXX, 1931, p. 404-416.
- VERLIAC. — Recherches expérimentales sur les toxines de l'actinomycose. *Th. méd.*, Paris, 1907.
- WILLIAMS (J.-W.). — Effect of glycerine on the growth of certain pathogenic fungi. *Proc. of soc. for experiment. biology and medec.*, XXXI, n° 8, 1934.
- WURTZ-CAMUS (L.). — Sur la technique du contrôle d'un vaccin telle qu'elle est en usage à l'Institut Supérieur de Vaccine. *Bull. Acad. Méd.*, LXXI, 1914, p. 21-27.



Fig. 1. — *Scopulariopsis Brumptii* nov. sp. : culture de 5 jours sur gélose glucosée à 2 %, filaments mycéliens vésiculeux.

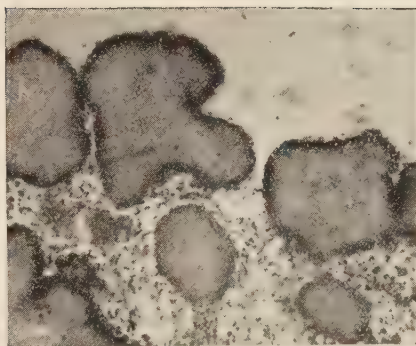


Fig. 2. — *Acaulium nigrum* : coupe de sclérotés.

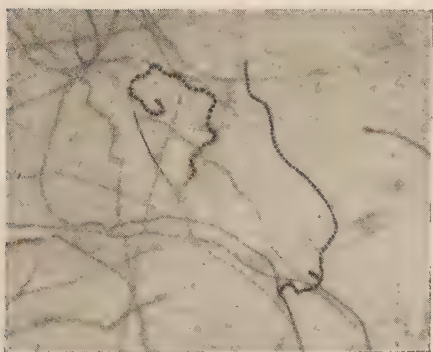


Fig. 3. — *Actinomyces albus* : culture sur lame, endospores.

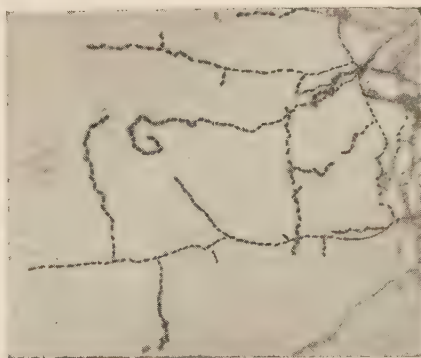


Fig. 4. — *Actinomyces Langeroni* : culture sur lame, arthrospores.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	1
CHAPITRE I. — GÉNÉRALITÉS.....	3
Historique	3
Préparation du vaccin	5
Contrôle du vaccin	7
Technique générale	9
Nomenclature des champignons étudiés.....	11
CHAPITRE II. — <i>PENICILLIUM</i>	13
<i>Penicillium citreo-sulfuratum</i>	13
<i>Penicillium frequentans</i>	17
<i>Citromyces ramosus</i>	20
<i>Penicillium luteum</i>	24
<i>Penicillium lanosum</i>	28
<i>Penicillium commune</i>	32
CHAPITRE III. — <i>SCOPULARIOPSIS</i>	38
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> var. <i>glabra</i>	39
<i>Acaulium nigrum</i>	45
<i>Acaulium nigrum</i> var <i>glabrum</i>	50
<i>Acaulium nigrum</i> var. <i>glabrum</i>	55
<i>Scopulariopsis Brumptii</i>	58
<i>Scopulariopsis versicolor</i>	63
CHAPITRE IV. — <i>ACTINOMYCES</i>	69
<i>Actinomyces albus</i>	72
<i>Actinomyces viridis</i>	77
<i>Actinomyces Almquisti</i>	81
<i>Actinomyces Langeroni</i>	85
CHAPITRE V. — ACCIDENTS VACCINAUX ET POUVOIR PATHOGÈNE DES CHAMPIGNONS ÉTUDIÉS.....	90
Essai des <i>Penicillium</i>	92
Essai des <i>Scopulariopsis</i>	95
Essai des <i>Actinomyces</i>	99
CONCLUSIONS.....	107
BIBLIOGRAPHIE	109



